

Aus der Medizinischen Poliklinik der
Universität Marburg a. d. Lahn
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. H. Kaffarnik

**Basale und reaktive Proinsulin-
und Insulinsekretion
bei Patienten mit Übergewicht
vor und nach Gewichtsabnahme**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von
Detlef Klähn
aus Ebsdorf/Marburg

Marburg 1976

Aus der Medizinischen Poliklinik der
Universität Marburg a. d. Lahn
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. H. Kaffarnik

**Basale und reaktive Proinsulin-
und Insulinsekretion
bei Patienten mit Übergewicht
vor und nach Gewichtsabnahme**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von
Detlef Klähn
aus Ebsdorf/Marburg

Marburg 1976



Vom Fachbereich Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg
an der Lahn als Dissertation angenommen am: 1. 10. 1976

Dekan: **Prof. Dr. Friedrich Neurath**

Referent: Priv. Doz. Dr. med. L. Hausmann

Correferent: Prof. Dr. med. dent. G. Ahrens

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung

- 1.1 Einführung
- 1.2 Geschichte des Insulins und Proinsulins
- 1.3 Proinsulin: Aufbau, Umwandlung zu Insulin
und Sekretion
- 1.4 Probleme der Proinsulinmessung
- 1.5 Fragestellung

2 Methode

- 2.1 Versuchspersonen
- 2.2 Aufbau der Reduktionsdiät
- 2.3 Oraler Glukose-Toleranztest mit 100,0 g
Glukose
- 2.4 Bestimmung von Glukose, Cholesterin und
Triglyceriden
- 2.5 Meßprinzipien der radioimmunologischen
Insulinbestimmung
- 2.6 Meßprinzipien zur Bestimmung des Proinsulins
mittels einer Insulin-spezifische Protease
- 2.7 Herstellung der Insulin-spezifischen
Protease
 - 2.7.1 Tiermaterial
 - 2.7.2 Präparation und Anreicherung der Protease
- 2.8 Reagenzien und Ausführung der radioimmuno-
logischen Insulin- und Proinsulinbestimmung

- 2.9 Mathematische Auswertung der Bestimmungen
- 2.10 Statistik

3 Ergebnisse

- 3.1 Gesamtinsulin
- 3.1.1 Dynamik des Gesamtinsulins unter
Glukosebelastung
- 3.1.2 Sekretions- und reaktives Sekretions-
volumen des Gesamtinsulins
- 3.2 Proinsulin
- 3.2.1 Dynamik und Sekretionsvolumina
- 3.3 Verhältnis von Proinsulin zu Gesamtinsulin
im Verlauf des Toleranztests
- 3.4 Maximaverteilung der Serumspiegel
- 3.5 Glukose
- 3.5.1 Dynamik und Sekretionsvolumina
- 3.5.2 Maximaverteilung
- 3.6 Cholesterin und Triglyceride
- 3.7 Regressionsanalyse und Korrelationen
- 3.8 Befunde nach Reduktionsdiät

4 Diskussion

- 4.1 Vorbemerkung
- 4.2 Methodische Fehler
- 4.3 Basale und reaktive Gesamtinsulinspiegel
im Vergleich mit der Literatur
- 4.4 Ursachen des Hyperinsulinismus
- 4.5 Triglyceride und Cholesterin bei Adipösen
- 4.6 Basale und reaktive Proinsulinspiegel im
Vergleich mit der Literatur - Analyse
unterschiedlicher Meßergebnisse
- 4.7 Vergleich der Sekretionsprofile von
Gesamtinsulin und Proinsulin

4.8 Gewichtsreduktion und ihre Bedeutung für
die Therapie des Diabetes mellitus

5 Ausblick

6 Zusammenfassung

7 Literatur

Abb. 1	Primärstruktur von Schweineproinsulin (nach (20))	S. 5
Abb. 2	β -Zelle im Pankreas (nach (69))	S. 7
Abb. 3	Prinzip der radioimmunologischen Insulinbestimmung (nach (2))	S. 18
Abb. 4	Typische Eichkurve zur Bestimmung des Gesamt- bzw. Proinsulins aus der gemessenen Radioaktivität	S. 31
Abb. 5	Sekretionsprofil von Gesamtinsulin und Proinsulin (Mittelwerte und Standardabweichung) sowie ihr pro- zentuales Verhältnis zueinander bei Glucosestimulation in Gruppen unterschiedlichen Patientengewichts	S. 37
Abb. 6	Mittelwerte der Gesamtflächen der Ausschüttung von Glukose, Gesamt- insulin und Proinsulin mit Stand- ardabweichungen	S. 38
Abb. 7	Mittelwerte der Anstiegsflächen der Ausschüttung von Glukose, Gesamt- insulin und Proinsulin mit Stand- ardabweichungen	S. 39

Abb. 8 Prozentuale Verteilung der Maxima
der Glukose-, Gesamtinsulin- und
Proinsulinspiegel auf die Meßzeit-
punkte des Belastungsversuchs S. 44

Abb. 9 Cholesterin und Triglyceride,
Einzel- und Mittelwerte der Ge-
wichtsgruppen S. 50

Abb. 10 Regressionsgeraden mit Korrelations-
koeffizienten und Signifikanzen
beim Vergleich der Flächen von
Insulin und Proinsulin mit dem
Körpergewicht (Broca-Index)
unter Glukosebelastung S. 52

Verzeichnis der Tabellen

- | | | |
|--------|---|----------|
| Tab. 1 | Grundlagen für die Einteilung der Patienten in Gewichtsgruppen mit Angabe von Alter, Größe und Gewicht (Mittelwerte und Standardabweichung) | S. 13 |
| Tab. 2 | Diagramm der Arbeitsgänge zur Präparation und Anreicherung einer Insulin-spezifischen Protease | S. 22/23 |
| Tab. 3 | Gesamtinsulin (Mittelwerte und Standardabweichung) im Verlauf der Glukosebelastung in Abhängigkeit vom Gruppengewicht | S. 34/35 |
| Tab. 4 | Immunologisch meßbares Proinsulin (Mittelwerte, Standardabweichung) im oralen Toleranztest bei Normal- und Übergewichtigen | S. 40/41 |
| Tab. 5 | Prozentuale Verteilung der Maxima der Glukose-, Gesamtinsulin-, Insulin- und Proinsulinspiegel auf die Meßzeitpunkte des Belastungsversuchs | S. 45 |
| Tab. 6 | Blutglukose (Mittelwerte und Standardabweichung) im oralen Glukose-Toleranztest sowie Basalwerte von Cholesterin und Triglyceriden in den Gewichtsgruppen K - V | S. 48/49 |

Tab. 7	Korrelationskoeffizienten und Signifikanzen	S. 53
Tab. 8	Übersicht über die Ergebnisse nach Gewichtsreduktion von 18 Probanden	S. 55
Tab. 9	Einzelwerte der 18 Probanden im oralen Belastungstest vor und nach dreimonatiger Reduktionsdiät	S. 56

Verzeichnis der benutzten Abkürzungen

GLU	Glukose
IBR	Insulinbindungsreagenz
IRI	Immunoreaktives Insulin
IRP	Immunoreaktives Proinsulin
ISP	Insulin-spezifische Protease
NEM	N-Äthylmaleinimid
OGTT	Oraler Glukose-Toleranztest
SD	Standardabweichung der Einzelwerte
SEM	Standardabweichung des Mittelwertes

1 Einleitung

1.1 Einführung

Die Entwicklung einer Methodik zur radioimmunologischen Insulinbestimmung durch YALOW und BERSON (1959) hat die bis dahin benutzten, relativ unempfindlichen, biologischen Meßanordnungen abgelöst. Nach weiteren Vereinfachungen waren damit Verfahren zur Insulinbestimmung entwickelt (55, 83, 91), die Eingang in die klinische Routinediagnostik fanden (38, 57). So konnte bald dank umfangreicher radioimmunologischer Messungen die schon früher vermutete Tatsache erhärtet werden, daß bei Fettsüchtigen sowohl basal als auch unter Stimulation ein erhöhter Blutinsulinspiegel vorliegt (4, 23, 29, 34, 67, 98, 135).

Es zeigte sich, daß dieser Hyperinsulinismus auf eine verminderte Insulinsensitivität der peripheren Gewebe, insbesondere des Fettgewebes zurückzuführen ist. Der Empfindlichkeitsverlust verläuft bis zu gewissen Grenzen proportional zum Anstieg des Körpergewichts. Hinzu kommt eine Überempfindlichkeit der β -Zellen des Pankreas gegenüber insulinogenen Substraten und Hormonen (123).

Bei andauerndem Übergewicht und der damit verbundenen,

ständig überhöhten Anforderung an die Insulinsekretion wächst die Gefahr des Insulinmangeldiabetes.

Die Entdeckung des Proinsulins, der einkettigen Vorstufe des Insulins (127) im menschlichen Serum (106, 107) führte zu aufwendigen Untersuchungen über die Rolle dieses Hormons, welches im Sinne einer insulin-ähnlichen Aktivität biologisch nahezu wirkungslos ist. Dabei beschränkte sich jedoch die Proinsulinforschung aufgrund der komplizierten säulenchromatographischen und elektrophoretischen Trennung von Insulin und Proinsulin auf wenige Plasmaproben (28). Durch die Darstellung eines Insulin-spaltenden Enzyms und die hiermit ermöglichte schnellere Messung des Proinsulins (13, 32, 71, 74) konnte auch die Sekretionsdynamik des Proinsulins unter verschiedenen Bedingungen erfaßt werden.

So liegen inzwischen Meßergebnisse der Proinsulinspiegel bei Fettsüchtigen vor, die sowohl nach der enzymatischen als auch nach der chromatographischen Methode ermittelt wurden (32, 46, 86, 107). Indessen wurden diese Arbeiten hauptsächlich unter biochemischen Aspekten, weniger im Hinblick auf klinische Erfordernisse durchgeführt. Dies zeigt sich besonders an der kleinen Zahl des Patientengutes. Ferner sind die Ergebnisse zum Teil sehr widersprüchlich (32, 46, 50, 86). In der

vorliegenden Arbeit soll daher anhand einer größeren Anzahl von Patienten ($n = 55$) untersucht werden, wie sich der Proinsulinspiegel bei Fettsüchtigen im Verhältnis zu Übergewicht und zu anderen Parametern verhält. Weiterhin wird überprüft, wie sich die Reduktion des Körpergewichts mit seinem nachweislich positiven Einfluß auf Serumsinsulin und Lipide auf den Proinsulinspiegel auswirkt.

1.2 Geschichte des Insulins und Proinsulins

Im Jahre 1922 gelang es BANTING und BEST auf Anregung von MAC LEOD, die Wirksamkeit des von ihnen zusammen mit COLLIN dargestellten Insulins eindeutig zu beweisen, nachdem bereits Forscher wie ZUELSENER (1908), De MEYER (1909) und SCOTT (1912) an diesem Problem gearbeitet hatten, jedoch an Verfahrensfragen gescheitert waren. 1923 erhielten BANTING und MAC LEOD für ihre Leistung den Nobelpreis.

ABEL stellte 1926 zum erstenmal Insulin kristallin dar. 1955 konnten SANGER, THOMPSON und KITAI nach zehnjähriger Arbeit vor anderen Arbeitsgruppen die Strukturformel des Insulins klären (61). Als schließlich im Jahre 1959 YALOW und BERSON das Prinzip zur radioimmunologischen Insulinbestimmung ausgearbeitet hatten, stand umfangreicheren und genaueren Untersu-

chungen über den Verlauf der Insulinsekretion nichts mehr im Wege.

Gleichzeitig gelang es 1963 drei verschiedenen Arbeitsgruppen, Insulin unabhängig voneinander zu synthetisieren: DU in China, KATSAYANIS / USA und ZAHN in Aachen.

Auf der Suche nach dem in vivo Syntheseweg des Insulins stießen STEINER und OYER 1967 (127) auf das Proinsulin als Insulinvorstufe. Der Name "Proinsulin" wurde bereits 1916 von SCHARPEY-SCHAFFER (6) aufgrund theoretischer Überlegungen geprägt. Die Aminosäuresequenz des Proinsulins konnte kurz nach seiner Entdeckung geklärt werden:

Schweineproinsulin durch CHANCE und Mitarb., 1968 (20)
Rinderproinsulin durch NOLAN und Mitarb., 1971 (92)
Humanproinsulin konnte von CHANCE 1972 (22) in seiner Struktur angegeben werden, nachdem mehrere Autoren (94) über menschliches C-Peptid gearbeitet hatten.

1.3 Proinsulin: Aufbau, Umwandlung zu Insulin und Sekretion

Proinsulin besteht aus dem Insulinteil und einer die A- und B-Kette des Insulins verbindenden Peptidkette,

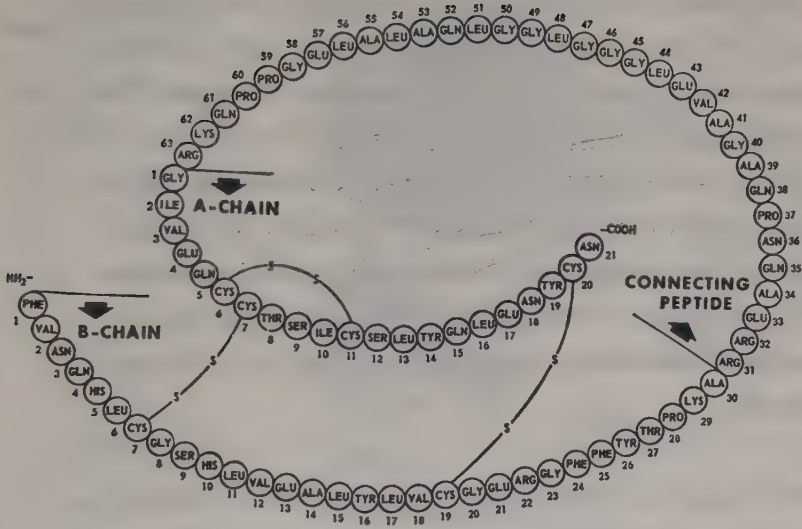


Abb. 1: Primärstruktur von Schweineproinsulin

dem sogenannten Connecting- oder C-Peptid, sowie wenigen verbindenden Aminosäuren. SHERMAN und Mitarbeiter konnten 1971 (121) zeigen, daß Proinsulin und das von anderen Forschern gefundene "Big Insulin" nicht voneinander zu unterscheiden sind. Es stellte sich heraus, daß die menschlichen und tierischen C-Peptide in der Abfolge der Aminosäuren zum Teil bis zu 50 % voneinander abweichen (22, 88, 109), während beim Insulin nur geringe Unterschiede auftreten. In-
dessen sind einige Aminosäuregruppen innerhalb des C-Peptids bei allen untersuchten Proinsulinen gleich, nach OYER (95) und KEMMLER (69) deshalb, weil diese Strukturen während der Biosynthese einen erheblichen Einfluß auf die Faltung des Proinsulins und damit auf die Ausbildung der Disulfidbrücken des Insulins haben.

Die Umwandlung des Proinsulins zum Insulin erfolgt in den sekretorischen Granula durch selektive Proteolyse (24, 128, 127) im Golgi-Apparat der β -Zellen des Pankreas (37, 69, 79, 88, 123, 127). Dabei fallen Insulin und C-Peptid in äquimolaren Mengen an (87, 111, 123), wie Versuche mit radioaktiv markierten Aminosäuren bewiesen.

Untersuchungen über die Dynamik der Synthese zeigten

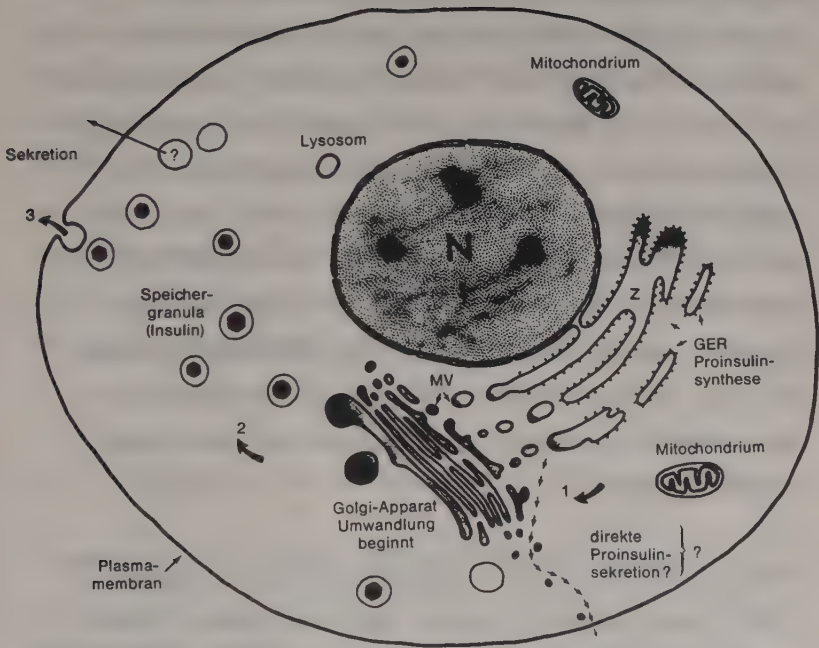


Abb. 2: β -Zelle im Pankreas

an isolierten Ratteninseln, daß die Umwandlung Proinsulin zu Insulin eine Halbwertszeit von etwa 1 h hat (116). Die zwei Umwandlungsprodukte, Insulin, C-Peptid und ein geringer Anteil Proinsulin werden in den sekretorischen Granula bis zu ihrer Sekretion gespeichert. Von den drei Stoffen zeichnet hauptsächlich das Insulin für die Wirkung verantwortlich, während Proinsulin nur eine schwache Insulinwirkung auf den Glukosestoffwechsel besitzt (39, 50, 107, 110, 123), die von KITABCHI (72) mit 6 - 10 %, von CHANCE (22), SCHLICHTKRULL (117) und SHERMAN (121) mit ca. 20 % angegeben wurde. Aus GLIEMANNS und SØRENSENS Arbeiten (45) über Messungen der Aktivität von Proinsulin an isolierten Fettzellen folgte sogar nur eine 2%ige Insulinwirksamkeit.

C-Peptid ist in dieser Beziehung völlig wirkungslos (110); über eventuelle andere Aufgaben dieses Bruchstückes ist nichts bekannt.

Zwischenformen der Insulin/Proinsulin-Umwandlung wie z. B. Desdiptid-Proinsulin sowie Diarginyl-Insulin wurden von GUTMAN und Mitarb. durch elektro-phoretische Methoden hauptsächlich im Serum Überge-wichtiger (54) und von Insulinompatienten (53) nach-gewiesen. Diese Intermediate werden auch als Pro-insulin-like-components (PLC) bezeichnet. Sie weisen

eine 40 - 70 %ige Insulinwirkung auf, je nach bereits vollzogenem Abbau (22, 72, 108, 129). Ob diese Zwischenprodukte und das Proinsulin im Kreislauf als Folge einer inkompletten Umwandlung zu betrachten sind und somit eine Art "Verunreinigung" des Insulins darstellen oder ob dem Proinsulin eine spezifische, extra-pankreatische Aufgabe zufällt, ist fraglich (111). Zumindest konnten FINEBERG und MERIMEE (39) in Versuchen am menschlichen Unterarm keine Anhaltspunkte dafür finden. Es ließ sich lediglich bei erhöhten Proinsulinspiegeln ein mäßiger Einfluß auf die Lipolyse und den Kaliumhaushalt feststellen (126).

1.4 Probleme der Proinsulinmessung

Immunologisch erfolgen vielfach Kreuzreaktionen zwischen Insulin, Proinsulin und PLC, so daß es bisher unmöglich war, spezifische Antikörper nur gegen Proinsulin herzustellen, die nicht gleichermaßen mit einer der anderen Komponenten reagieren (1, 7, 21, 74, 87, 88, 111). Ferner erschwert die Speziespezifität, die aus den oben genannten Gründen ein solcher Antikörper hätte, seine Herstellung. Deshalb wurden Proinsulin- und C-Peptid-Messungen bisher nur mit der aufwendigen Gel-Chromatographie durchgeführt. Erst die Entwicklung eines enzymatischen Verfahrens (74) machte das

selektive Erfassen von Proinsulin möglich.

Hier sei darauf hingewiesen, daß bereits im Jahre 1949 von MIRSKY und BROH-KAHN (90) eine "Insulinase" aus Gewebeextrakten isoliert worden war, die den physiologischen Abbau des Insulins erklären sollte. Doch diese "Insulinase" war im Gegensatz zu dem von uns benutzten Enzym an das Vorhandensein freier Sulfhydrylgruppen gebunden.

1973 wurde von YALOW und BERSON bei einer Insulinompatientin ein weiteres hochmolekulares Protein entdeckt (138), das unter anderem Proinsulin enthielt. Die Autoren nannten es "Big Big Insulin". Es stellte sich heraus, daß es sich dabei wahrscheinlich um einen Proinsulinvorläufer handelt; jedoch ist ein sicherer Nachweis noch nicht gelungen.

1.5 Fragestellung

1. Wie verhalten sich die Serumspiegel von Gesamtinsulin und Proinsulin a) basal und b) im oralen Glukose-Toleranztest in Abhängigkeit vom Körpergewicht?

2. In welchem Verhältnis steht die ausgeschüttete Insulin- und Proinsulinmenge zum ansteigenden Übergewicht?
3. Wie verändert sich das Verhältnis von Insulin zu Proinsulin im Verlauf des Toleranztestes?
4. Zu welchen Zeitpunkten liegen die durchschnittlichen Maxima der Serumspiegel von Insulin, Proinsulin und Glukose im Ablauf des Glukose-Toleranztestes?
5. Wie verhalten sich die Basalspiegel von Cholesterin?
6. Lassen sich Zusammenhänge zwischen dem Basalwert der Triglyceride und den übrigen Parametern aufzeigen?
7. Ergeben sich Verbesserungen der gemessenen Serumwerte nach Gewichtsreduktion?

2 Methode

2.1 Versuchspersonen

Bei den Personen, die sich zu dem Test bereit fanden, handelt es sich um 55 ambulante Patienten der Universitäts-Poliklinik Marburg. Keiner der Patienten wies endokrine Erkrankungen auf, keiner litt an einem klinisch manifesten Diabetes (26, 123). An Stelle der aufwendigen Bestimmung des Fettzelldurchmessers (10), die mit einem chirurgischen Eingriff verbunden ist, der nicht gerechtfertigt schien, wurde das Körpergewicht als Maß für das überschüssige Körperfett benutzt. Die Versuchspersonen wurden entsprechend ihrem Übergewicht nach BROCA in Gruppen eingeteilt.

$$\text{Es gilt: } \text{BROCA Index} = \frac{\text{Gewicht} \times \text{cm}}{(\text{Größe} - 100) \times \text{kg}} \times 100 \%$$

$$\text{Normalgewicht} = 100 \% \text{ BROCA}$$

$$\text{Idealgewicht} = 80 - 90 \% \text{ BROCA}$$

In Tabelle 1 sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) von Alter, Gewicht und Größe der Probanden nebst der Standardabweichung (SD) und der Anzahl (n) der Personen pro Gruppe als Grundlagen der Gruppenzuordnung zusammengestellt.

Gruppe	BROCA-Index %	Alter (J)	Größe (cm)	Gewicht (kg)	Anzahl (n)
K	> 110 85.9 $\pm$ 3.3	$\bar{x}$ 23.5 SD 2.4	168.9 7.8	59.1 6.1	13
I	110 - 129 125.4 $\pm$ 5.9	$\bar{x}$ 39.5 SD 15.2 a 0.82 ⁺⁺	169.9 5.1 73,47	87.6 7.6 0.000 ⁺⁺⁺	10 %
II	130 - 149 143.0 $\pm$ 4.9	$\bar{x}$ 36.7 SD 16.0 a 1.24 ⁺	165.5 6.8 23.90	93.8 11.9 0.00 ⁺⁺⁺	13 %
III	150 - 169 157.0 $\pm$ 6.9	$\bar{x}$ 41.0 SD 17.6 a 1.10 ⁺	165.1 3.3 14.29	102.1 5.5 0.00 ⁺⁺⁺	10 %
IV	170 - 189 178.0 $\pm$ 5.6	$\bar{x}$ 34.4 SD 12.4 a 4.69 ⁺	165.4 10.1 39.81	116.3 16.9 0,00 ⁺⁺⁺	7 %
V	> 189 200.0 $\pm$ 5.9	$\bar{x}$ 43.5 SD 0.7 a 0.00 ⁺⁺⁺	161.5 2.1 21.5	123.0 0.6 0.00 ⁺⁺⁺	2 %

Tab. 1:
Grundlagen für die Einteilung der Patienten in Gewichtsgruppen mit Angabe von Alter, Größe und Gewicht (Mittelwerte und Standardabweichung)
K = Kontrolle, $\bar{x}$ = arithmetischer Mittelwert, SD = Standardabweichung der Einzelwerte, a = $\angle$ = Irrtumswahrscheinlichkeit in Bezug auf die Kontrolle K (signifikant wenn a $\leq$ 5 %), n = Anzahl der Probanden pro Gruppe, Signifikanzen = +, ++, +++, s. S. 32

Zu Gruppe V ist anzumerken, daß sie statistisch kaum aussagefähig ist, da sie nur aus 2 Patienten besteht, daß sie aber Verlaufsbeobachtungen abrunden kann und deshalb zum Teil in Einzeldaten mitaufgeführt ist.

2.2 Aufbau der Reduktionsdiät

Bei 23 Versuchspersonen aus dem genannten Patienten-gut wurde ambulant eine 1000 cal Reduktionsdiät durchgeführt. Die tägliche Kost bestand aus 90,0 g Kohlehydraten, 70,0 g Eiweiß und 40,0 g Fett - entsprechend einem energetischen Anteil von ca. 36 % KH, 28 % Proteinen und 36 % Fett. Nach 3 Monaten wurde ein weiterer Belastungstest vorgenommen, um festzustellen, ob sich durch Gewichtsverlust eine Verschiebung der zuvor gemessenen Serumspiegel von Glukose, Insulin und Proinsulin erreichen läßt.

2.3 Oraler Glukose-Toleranztest mit 100,0 g Glukose

Alle Probanden waren aufgefordert worden, sieben Tage vor dem Test keine Medikamente einzunehmen, sich drei Tage vorher kohlenhydratreich zu ernähren (123) und 12 Stunden vor Testbeginn zu fasten.

Der Glukose-Toleranztest wurde durch orale Gabe von 100,0 g resorbierbarer Glukose in Form von 400 ml einer industriell hergestellten Lösung ¹⁾ durchgeführt. Dieser Test hat sich in der Marburger Universitäts-Poliklinik bewährt (56, 57) und entspricht einer Empfehlung der WHO. Der orale Toleranztest mit 100,0 g Glukose kann im Gegensatz zu anderen Formen wie z. B. den intravenösen oder hormonellen Toleranztests als aussagekräftig und relativ physiologisch gelten (18, 40, 82, 124). Dies ist im Rahmen der vorliegenden Arbeit besonders wichtig, da physiologische Sekretionsprofile von Insulin und Proinsulin gemessen werden sollten und mit 100,0 g Glukose eine ausreichende Pankreas-Stimulierung zu erwarten ist (18).

Da verschiedene Untersuchungen zeigten, daß die physiologische Insulinantwort tageszeitlichen Schwankungen unterliegt (17, 64) und morgens ein "Zustand optimaler Glukosetoleranz" besteht (64), fanden die Tests immer um 9⁰⁰ h früh statt. Die Blutentnahme erfolgte aus der vena cubitalis, da damit nach SKILLMANN und TZAGOURNIS (123) bessere Ergebnisse als bei Verwendung von Kapillarblut zu

-.--.-.-.-.

1) Dextro-OGT^R, Fa, Maizena GmbH, Hbg.

400 ml aromatisierter Saft enthalten: 18,0 wasserfreie Glukose, 14,0 Maltose, 12,0 Maltotriose, 56,0 höhere Oligosaccharide entsprechend 100,0 resorbierbarer Glukose.

erzielen sind. Es wurden jeweils vor (Nüchtern-, Basal- oder 0-Wert) sowie 30, 60, 120 und 180 Minuten nach der Glukosegabe 5 ml Blut entnommen. Die Blutprobe wurde sofort zentrifugiert, um Störungen der Insulin- und Proinsulin-Meßwerte durch eintretende Hämolyse zu vermeiden (12).

Das Serum wurde bis zur weiteren Verarbeitung bei -30° C gefroren gehalten, da die Lagerung bei dieser Temperatur die Werte von Insulin und Proinsulin nicht beeinflußt (85). An allen Proben wurden folgende Serumwerte gemessen:

Glukose, Insulin und Proinsulin, an den Nüchtern-Proben zusätzlich Cholesterin und Triglyceride.

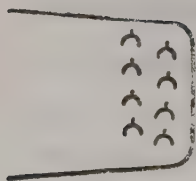
2.4 Bestimmung von Glukose, Cholesterin und Triglyceriden

- a) Die Messung der Blutglukose erfolgte nach der o-Toluidin-Methode im Auto-Analyzer (119).
- b) Die Bestimmung des Cholesterins wurde nach den Angaben von ZÖLLNER und KIRSCH (139) modifiziert nach RICHTERICH und LAUBER (105) im Auto-Analyzer vorgenommen.
- c) Die Erfassung der Triglyceride geschah nach EGGSTEIN und KREUTZ(33) in einer Modifikation nach SCHMIDT und DAHL (118).

2.5 Meßprinzipien der radioimmunologischen Insulinbestimmung

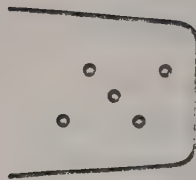
Die Bestimmung des Serumgesamtinsulins (total immunoreactive insulin = TIR) wurde nach der Doppelantikörper-Methode von HALES und RANDLE (55) durchgeführt. Dabei handelt es sich um eine Modifikation der ursprünglich angegebenen Methode von YALOW und BERSON (136, 137). Sie beruht auf der kompetitiven und quantitativen Verdrängung des im Plasma vorhandenen Insulins an einem speziellen Insulin-Antikörper durch radioaktiv markiertes Insulin und wird im weiteren mit Immunoassay bezeichnet.

Das radioaktive Insulin ist mit J^{125} markiert. Dieses ist am Thyrosin, vorwiegend in der A-Kette des markierten Insulins, angelagert. Die biologische Aktivität des Insulins sinkt bei Anlagerung von maximal 4 Atomen J^{125} praktisch auf Null, während die immunologische Aktivität fast vollständig erhalten bleibt und sich im Immunoassay ein leichter Aktivitätsabfall nicht nachteilig auswirkt (89). Das verwendete Jodoinsulin hatte eine Aktivität von ca 50 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$.



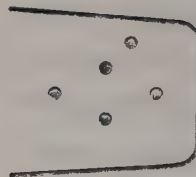
IBR

+



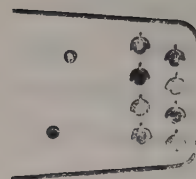
PATIENTEN
INSULIN

+



RADIO
INSULIN

=

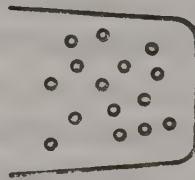


4x5 IM
PRÄZIPITAT



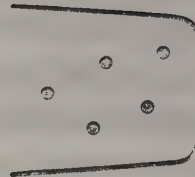
IBR

+



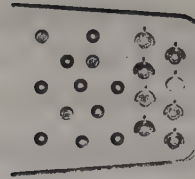
PATIENTEN
INSULIN

+



RADIO
INSULIN

=



2x5 IM
PRÄZIPITAT

Abb. 3: Prinzip der radioimmunologischen Insulinbestimmung

Das Insulin-Bindungsreagenz (IBR) besteht aus Insulin-Antikörpern, die mittels eines zweiten - gegen diese insulinbindenden Globuline gerichteten Antikörpers - präzipitiert sind.

Gibt man im Versuch Folgendes zusammen:

Patienteninsulin + J^{125} - Insulin + IBR, so bildet sich eine Mischung aus J^{125} - Insulin-IBR-Komplexen und Patienteninsulin-IBR-Komplexen, die miteinander in einem Gleichgewicht stehen, welches das initiale Verhältnis von J^{125} -Insulin zu Patienteninsulin widerspiegelt. Dies geschieht durch die kompetitive Bindung beider Insuline an dem im quantitativen Unterschuß zugegebenen IBR.

Die Radioaktivität des erhaltenen Präzipitats ist bei konstanter Menge J^{125} -Insulin und IBR ein Maß für die im Patientenserum enthaltene Insulinmenge. Das Abtrennen des Präzipitats kann auf verschiedene Weisen erfolgen (2, 27, 51, 100). Im vorliegenden Versuch wurde das Präzipitat abgefiltert.

2.6 Meßprinzipien zur Bestimmung des Proinsulins mittels einer Insulin-spezifischen Protease

Die Proinsulinbestimmung basiert auf der Methode von

KITABCHI und Mitarb. (74), modifiziert nach BRUSH (13). Die Einzelheiten des hier benutzten Verfahrens wurden von KLIMEK (75) erarbeitet.

Ein aus Rattenleber gewonnenes Enzym, die sogenannte Insulin-spezifische Protease (ISP), spaltet das in der Plasmaprobe vorhandene Insulin in radioimmunologisch nicht mehr faßbare Bruchstücke, läßt jedoch das Proinsulin nahezu unangetastet (73, 74). So bleibt mit IBR immunologisch nur noch das Proinsulin nachweisbar. Die Messung der Serumprobe vor und nach Inkubation mit der Protease liefert daher folgende Daten:

Gehalt TIR	bestehend aus Insulin, Proinsulin, Intermediates (Zwischenstufen) und etwas C-Peptid.
------------	---

Gehalt IRP	bestehend aus Proinsulin, C-Peptiden und Proinsulin-like-components (PLC) (74).
------------	---

Differenz: $TIR - IRP = IRI$ (74)

IRI (Immunoreactive Insulin) ist das eigentlich biologisch wirksame Insulin (72).

2.7 Herstellung der Insulin-spezifischen Protease

2.71 Tiermaterial

Als Versuchstiere wurden männliche Wistaratten von ca. 180,0 g Gewicht verwandt ¹⁾. Die Tiere hatten freien Zugang zu Wasser und Futter.

2.72 Präparation und Anreicherung der Protease

20 Ratten wurden durch Genickschlag getötet und anschließend ausgeblutet. Dann wurden die Lebern der Tiere exstirpiert. Alle weiteren Arbeitsgänge erfolgten, wenn nichts anderes vermerkt ist, bei einer Temperatur von +4⁰ C.

Die Lebern teilte man in ca. 2,0 g große Stückchen und versetzte sie mit einer 0,35 m Saccharoselösung im Verhältnis 1 : 4. Dieses Gemisch wurde in einem Ultra Turax Homogenisator ²⁾ bei 20000 U/min in 5 x 10 Minuten im Eisbad homogenisiert. Den weiteren Verlauf des Verfahrens zeigt das folgende Diagramm auf

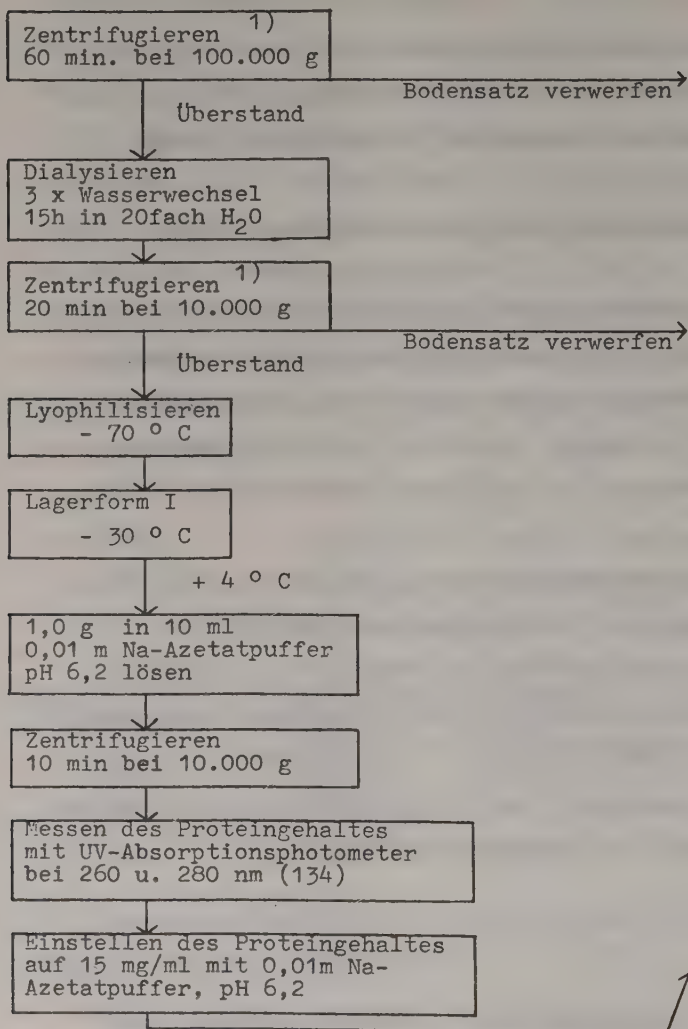
---.-.-.-.-.-

1) Versuchstierzucht Ivanovas, Kissleg/Allgäu

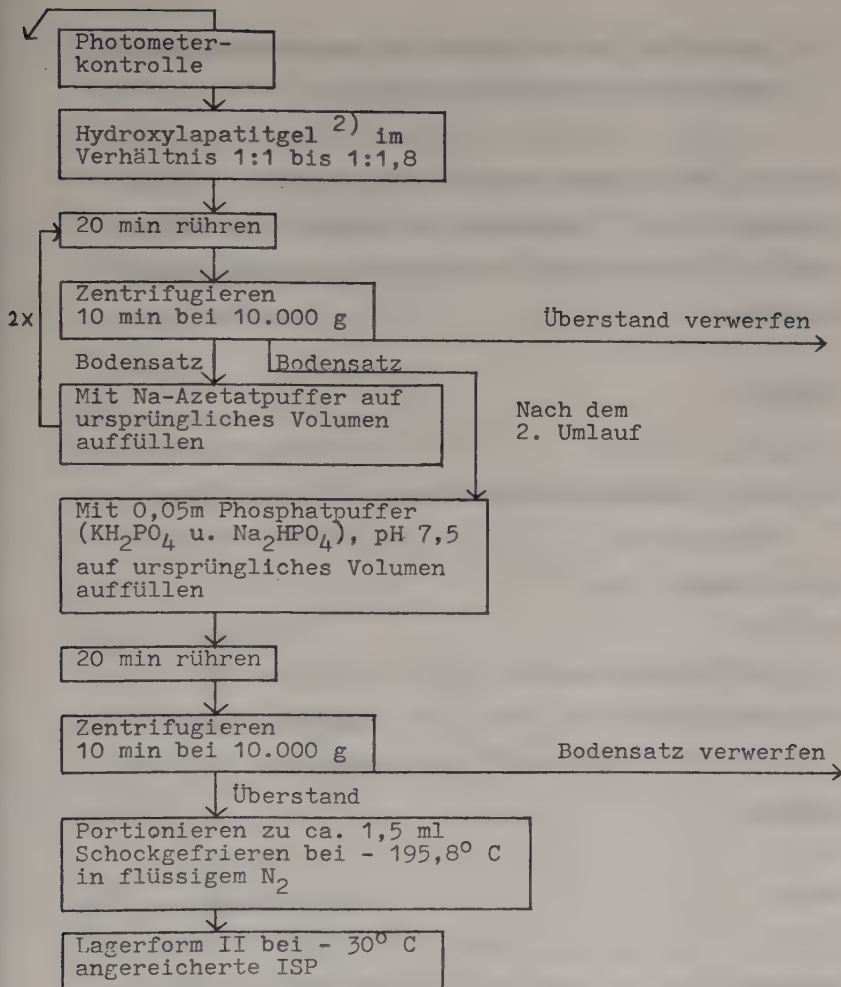
2) Fa. Janke und Kunkel, Staufen im Breisgau.

Tab.: 2

Diagramm der Arbeitsgänge zur Präparation und Anreicherung einer Insulin-spezifischen Protease



1) Präparative Ultrazentrifuge L-3-50. Fa. Beckmann Instruments Palo Alto, Calif. USA



2) Hydroxylapatit-SC-Gel, Fa. Serva Biochemica, Heidelberg. Gel nicht konstant, Verhältnis nur experimentell zu ermitteln. Ca. 1,18 Gel zu 1,0 Proteinlösung.

2.8 Reagenzien und Ausführung der radioimmunologischen Insulin- und Proinsulinbestimmung

Zur Insulinbestimmung wurde ein industrielles Insulin-Immunoassay-Kit ¹⁾ verwendet. Vor Beginn der Versuche bzw. vor jedem Ansatz waren folgende Reagenzien herzustellen:

Puffer A

Na H ₂ PO ₂ : 2 H ₂ O	6,2 g
Natriumäthylmercuriothiosalicylat (Thiomersalat)	0,25 g
Rinderalbumin reinst ²⁾	5,0 g
Na OH 2n	ca 15,0 ml
....(zum Einstellen auf pH 7,4)	
aqua deionisata	ad 1000,0 ml

Puffer B

Na Cl	9,0 g
Puffer A	ad 1000,0 ml

Puffer C

Rinderalbumin	39,0 g
Puffer A	ad 1000,0 ml

-.-.-.-.-

1) IM 39 / The Radiochemical Center Amersham/Buchler & Co.
Braunschweig

2) Behringwerke AG Marburg

Die Mengen wurden so bemessen, daß von Puffer A und B jeweils 250 ml, von Puffer C 1500 ml zur Verfügung standen. Die Verwendungsdauer von Puffer A und B beträgt bei Aufbewahrung im Kühlschrank bei $+4^{\circ}\text{C}$ etwa 2 Wochen. Puffer C wurde bis zum Verbrauch in Polyäthylenflaschen zu jeweils 250 ml bei -30°C eingefroren gelagert.

NEM

N-Äthyl-maleinimid 0,01 m

12,5 mg NEM in 10 ml aqua deionisata gelöst

Haltbarkeit 2 Wochen bei $+4^{\circ}\text{C}$

IBR

Insulinbindungsreagenz aus dem Kit, liegt in gefriergetrockneter Form vor. Der Inhalt eines Gläschens wird direkt vor jedem Ansatz mit 60 ml aqua deionisata aufgelöst.

J^{125} - Insulin

Das radioaktive markierte Insulin wird aus dem Transportgefäß des Kits in Einmalspritzen zu Portionen von je 1,5 ml aufgezogen und bis zur weiteren Verwendung bei -30°C gelagert. Vor jedem Ansatz wird der Inhalt einer Spritze im Verhältnis 1 : 8 mit Puffer A versetzt. Aktivität pro Spritze ca 1,5 μCi .

Standards

Das lyophilisierte "Standard Human Insulin" des Kits wird in 10 ml Puffer B gelöst. Es hat jetzt eine Insulinkonzentration von 250 $\mu\text{E/ml}$. Mit Enzympipetten wird diese Stammlösung mit Puffer B so verdünnt, daß sich eine Standardreihe mit folgenden Konzentrationen ergibt (Menge: 5 ml/Wert):

12,5 / 25,0 / 37,5 / 50,0 / 75,0 / 100,0 / 150,0
 $\mu\text{E/ml}$

Die Standards werden in Eppendorfhütchen zu etwas mehr als 300 μl abgefüllt und bei -30°C aufbewahrt.

Ansatz

Alle Bestimmungen wurden 3fach durchgeführt. Die benötigte Anzahl Eppendorfgefäße wurde in einem Regalständer durchnummeriert.

Gefäß Nr.	Inhalt	
1 - 2		Maximalwert
3 - 6	100 µl Puffer A	
	100 µl Puffer B	Waschwert
7 - 10	100 µl Puffer B	Leerwert
11 - 13	100 µl Standard 1	
.	.	
.	.	- Standardwerte
29 - 31	100 µl Standard 7	
32 - 34	100 µl Probe 1	Insulinwerte
.	.	
.	.	
n - (n + 3)	100 µl Probe 1	Proinsulinwerte
.	.	
.	.	

Für die Proinsulinbestimmung wurden die betreffenden Proben jeweils mit 25 µl ISP versetzt, mit dem elektrischen Rührstab durchgerührt und anschließend für 20 min bei + 37° C in der feuchten Kammer inkubiert. Danach erfolgte der Abbruch des enzymatischen Insulinabbaus durch Vergiften des Enzyms mit 25 µl 0,01 NEM (14, 74). Nun wurde zu allen Proben ab Gefäß Nr. 7 je 100 µl IBR hinzugegeben. Von diesem Zeitpunkt (t = 0) an laufen die Reaktionen des Immunoassays.

Es folgen:

6 h Lagerung bei + 4° C

Gabe von 100 μ l J¹²⁵-Insulin in alle Gefäße

18 h Lagerung bei +4° C

Dann wurde das gebildete Präzipitat abgetrennt:

Dazu wurde der Inhalt eines Reagiergefäßes auf ein Membranfilter ¹⁾ pipettiert, das in gekühltem Puffer C eingeweicht worden war. Nach Absaugen der Flüssigkeit wurde mit 2 x 1 ml kaltem Puffer C Gefäß und Filterrückstand nachgewaschen.

Nachzutragen ist, daß die Proben 1 und 2 nicht gefiltert, sondern direkt bestimmt wurden.

Die Radioaktivität sowohl dieser beiden Proben als auch der in den Filtern befindlichen J¹²⁵ - Insulin-IBR-Komplexe konnte anschließend in einem γ -Zähler ²⁾ ermittelt werden. Die Zählzeit betrug 2 min, die Ausgabe erfolgte als "counts per minute" (cpm). Die Rate der Hintergrundstrahlung wurde vom Instrument bereits subtrahiert.

-.-.-.-.-.-.-

- 1) Nuflow Membrane Filter / Oxoid Ltd / Amersham-Buchler
- 2) Flüssigkeits-Szintillationszähler (Tri-Carb Modell 3357 + 3380), Packard Instruments GmbH Ffm

2.9 Mathematische Auswertung der Bestimmungen

Zunächst gelten als Kontrollen die Zählraten (cpm) des Null- oder Leerwertes (Proben 7 - 10), des Maximalwertes (Proben 1,2), des ersten Standards (Proben 11 - 13), und des Waschwertes (Proben 3 - 6).

Die Versuchsbedingungen sowie die Empfindlichkeit des Immunoassays sind dann als optimal anzusehen, wenn:

- a) der Leerwert bei 30 - 50 % des Maximalwertes liegt (ausreichende Aktivitätsreserve).
- b) der Standard 1 ($12,5 \mu\text{E/ml}$) ca 50 % des Nullwertes beträgt (empfindlichster Meßbereich).
- c) der Waschwert 5 % des Maximalwertes nicht übersteigt (optimales Auswaschen von ungebundenem $\text{J}^{125}\text{-Insulin}$) (2).

Die mathematische Auswertung erfolgte auf einem programmierbaren Tischrechner ¹⁾.

Es wurden die relative Aktivität einer Probe $\frac{w_0}{w_x}$ errechnet nach:

---.---.---

1) Olivetti 101

$$\frac{w_o}{w_x} = \frac{w_o}{w_y - w_w} \quad (\text{cpm})$$

w_o = Nullwert

w_w = Waschwert

w_y = Probe

w_x = korrigierte Probe

$\frac{w_o}{w_x}$ stellt eine dimensionslose Zahl dar. Sie überstrich

in diesen Versuchen den Bereich zwischen 1 und ca. 16, bewegte sich jedoch zumeist zwischen 1 und 8.

Die zu einer Probe gehörenden Einzelwerte wurden gemittelt (extrem abweichende Einzelwerte - Abweichung $> 3 \times \text{SD}$ - blieben unberücksichtigt) und die zugehörige Standardabweichung wurde errechnet.

Die Werte $\frac{w_o}{w_x}$ der Standardreihe wurden gegen die zuge-

hörigen Insulinwerte in ein Koordinatensystem eingezeichnet. Aus dieser Eichkurve konnte für jedes $\frac{w_o}{w_x} \leq 8$ der zu messenden Proben der Insulin- bzw. Proinsulingehalt direkt abgelesen werden. Für Werte $\frac{w_o}{w_x} \geq 8$ wurde der Spiegel aus dem Wert $\frac{w_o}{w_x}/2$ extrapoliert, da die Eichkurve im oberen Bereich genügend linear verläuft.

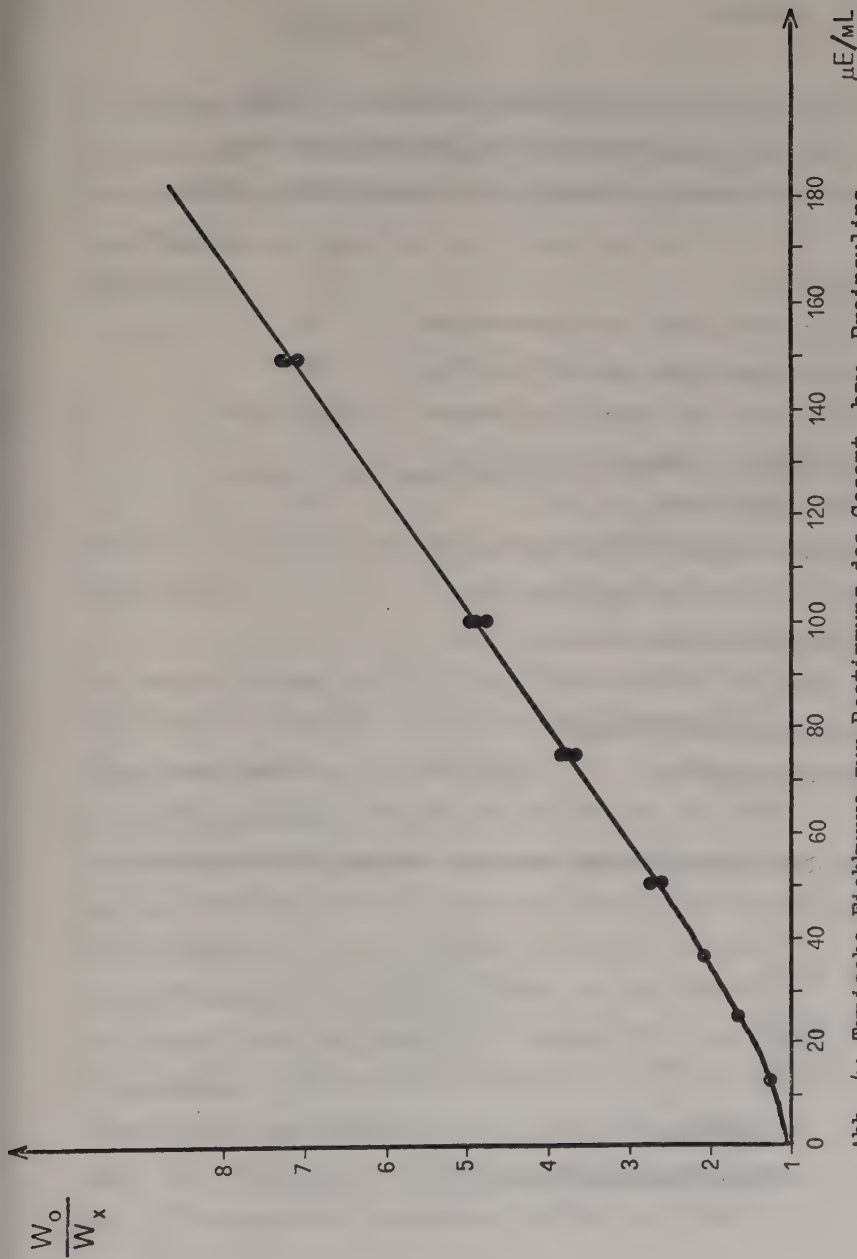


Abb. 4: Typische Eichkurve zur Bestimmung des Gesamt- bzw. Proinsulins aus der gemessenen Radioaktivität

2.10 Statistik

Die statistischen Berechnungen wurden auf einem Rechner TR 4 des Rechenzentrums der Philipps-Universität Marburg in Fortran IV B durchgeführt (114).

Mittelwert	$\bar{x}$
Standardabweichung der Einzelwerte	SD
Standardabweichung des Mittelwertes	SEM
Fläche unter der jeweiligen Serumspiegelkurve (Integral), gibt die Gesamtausschüttung an (15)	F
Differenz dieser Fläche und der Fläche die aus dem Basalwert des Serumspiegels über die Zeit gebildet wird	ΔF
Korrelationskoeffizient	r
Regressionsgerade	$y = ax + b$

Nach den Signifikanzschranken der Student-Verteilung gilt:

p = 0,05	+	$\mathcal{L} = 5 \%$
p = 0,01	++	$\mathcal{L} = 1 \%$
p = 0,001	+++	$\mathcal{L} = 0,1 \%$

p = Signifikanz

$\mathcal{L}$ = Irrtumswahrscheinlichkeit

3

Ergebnisse

In den Tabellen 3, 4 und 6 sowie Abb. 5 sind die mittleren Werte der Blutspiegel mit den zugehörigen Standardabweichungen eingetragen. Ferner sind die Signifikanzen in Beziehung zur Kontrollgruppe K aufgeführt.

3.1 Gesamtinsulin

3.1.1 Dynamik des Gesamtinsulins unter Glukosebelastung

Tabelle 3 gibt die Werte des Gesamtinsulins TIR im OGTT wieder.

Der basale Spiegel der TIR liegt bei Adipösen deutlich höher als bei der Kontrollgruppe. Statistisch abgesichert ist dies in den Gruppen II - V. Nach Stimulation steigen dann bei allen Gruppen die TIR-Spiegel zu den 30'-Werten stark an; das Maximum wird von den einzelnen Gruppen jedoch zu unterschiedlichen Zeiten erreicht. Bis zur Gruppe III steigt der absolute Maximalwert des TIR-Spiegels an, um dann bis zur Gruppe V auf die immer noch 2fache Höhe der Gruppe K abzusinken. Am Schluß des Versuches ($t = 180'$) hat keine Gruppe den Basalwert wieder erreicht, jedoch weist der TIR-Spiegel am Ende des Tests in den Gruppen II - V noch ein Vielfaches vom Wert zur Zeit $t = 0'$

BROCA- Gruppe	TIR ($\mu\text{E}/\text{ml}$)	Fläche ($\frac{\mu\text{E} \times \text{Min.}}{\text{ml}}$)					Δ Fläche ($\frac{\mu\text{E} \times \text{Min.}}{\text{ml}}$)
		0'	30'	60'	120'	180'	
K	$\bar{x}$	14.4	74.6	61.3	33.9	24.0	5379.2
	SD	3.5	40.3	44.7	12.3	7.3	3093.0
I	$\bar{x}$	32.5	117.8	121.0	73.4	38.0	15451.7
	SD	43.4	88.5	44.1	35.0	22.5	5879.0
	a	21.68	13.16	0.43++	0.87++	8.78	0.09+++ 2.61+
II	$\bar{x}$	22.9	121.2	156.9	139.2	76.1	20427.5
	SD	5.4	34.3	76.5	68.0	52.5	7362.3
	a	0.01+++	0.51++	0.07+++	0.01+++	0.41++	0.02+++ 0.03
III	$\bar{x}$	34.5	131.6	203.6	227.4	130.8	32695.5
	SD	13.9	51.8	68.8	167.7	162.2	17960.6
	a	0.12++	0.00+++	0.00+++	0.45++	6.42	0.16++ 0.21++

IV	$\bar{x}$	27.3	111.9	121.0	118.7	63.7	18244.3	13332.8
	SD	12.6	67.6	58.4	59.8	42.2	7774.0	7550.1
	a	2.61 ⁺	13.69	1.95 ⁺	0.49 ⁺⁺	3.57 ⁺	0,05 ⁺⁺⁺	0,34 ⁺⁺ %
V	$\bar{x}$	26.0	87.0	134.4	140.5	112.5	20857.5	16177.5
	SD	2.8	4.2	53.0	154.9	109.6	15135.6	14626.5
	a	0.06 ⁺⁺⁺	68.07	5.34	0,77 ⁺⁺	0,25 ⁺⁺	0,61 ⁺⁺	1,43 ⁺ %

Tabelle 3:

Gesamtinsulin (Mittelwerte und Standardabweichung) im Verlauf der Glukosebelastung in Abhängigkeit vom Gruppengewicht.

Legende s. Tab. 1.

auf. Im Gegensatz dazu stehen die Gruppen K und I, die ihren TIR-Wert wieder fast auf den "Ruhepegel" gesenkt haben.

3.1.2. Sekretions- und reaktives Sekretionsvolumen des Gesamtinsulins

Die Vergleiche der Flächenberechnungen spiegeln ein ähnliches Ergebnis wider. Die Fläche (s. Abb. 6 und Tab. 3), die der Menge des insgesamt ausgeschütteten Insulins entspricht, hat sich bereits zwischen Gruppe K und I verdoppelt, bei Gruppe II ist sie auf das 2 1/2 fache angewachsen und erreicht bei Gruppe III einen Höchstwert, der etwa dem 4-fachen des Normalen (K) entspricht, um dann wieder zurückzugehen.

Ganz analog, noch deutlicher, verhält sich die Anstiegsfläche (Δ Fläche) (s. Abb. 7 und Tab. 3). Hier werden im Vergleich zur Kontrolle bei Gruppe I das 1 1/2fache, bei Gruppe III schließlich das 5fache an akuter Insulinausschüttung als Antwort auf den Glukosestimulus erreicht. Bei weiterer Gewichtszunahme der Patienten ist ein wieder abnehmendes ΔF festzustellen. Diese Befunde sind ab Gruppe II, teilweise auch ab Gruppe I statistisch relevant.

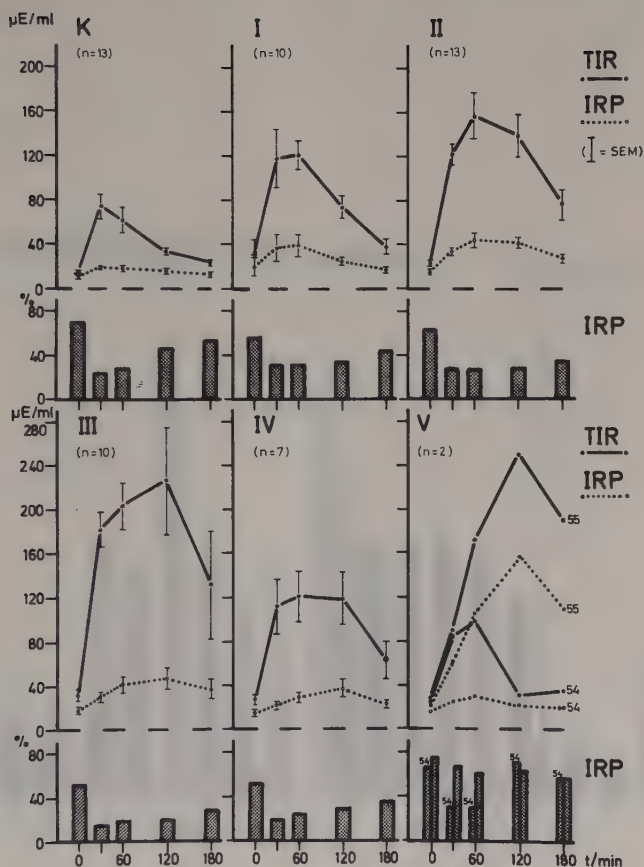


Abb. 5: Sekretionsprofil von Gesamtinsulin und Proinsulin (Mittelwerte und Standardabweichung) sowie ihr prozentuales Verhältnis zueinander bei Glukosestimulation in Gruppen unterschiedlicher Patientengewichts

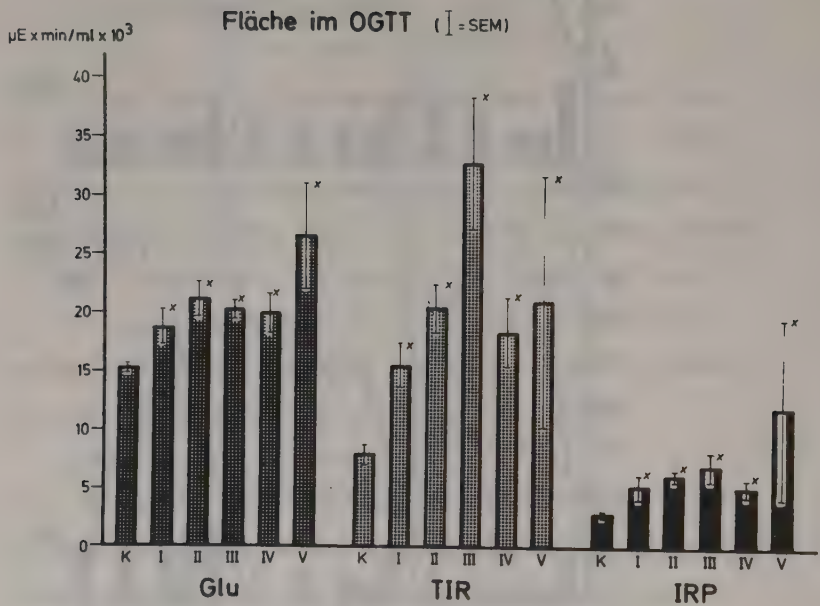


Abb. 6: Mittelwerte der Gesamtflächen der Ausschüttung von Glukose, Gesamtinsulin und Proinsulin mit Standardabweichungen
x = Signifikanz gegenüber Gruppe K

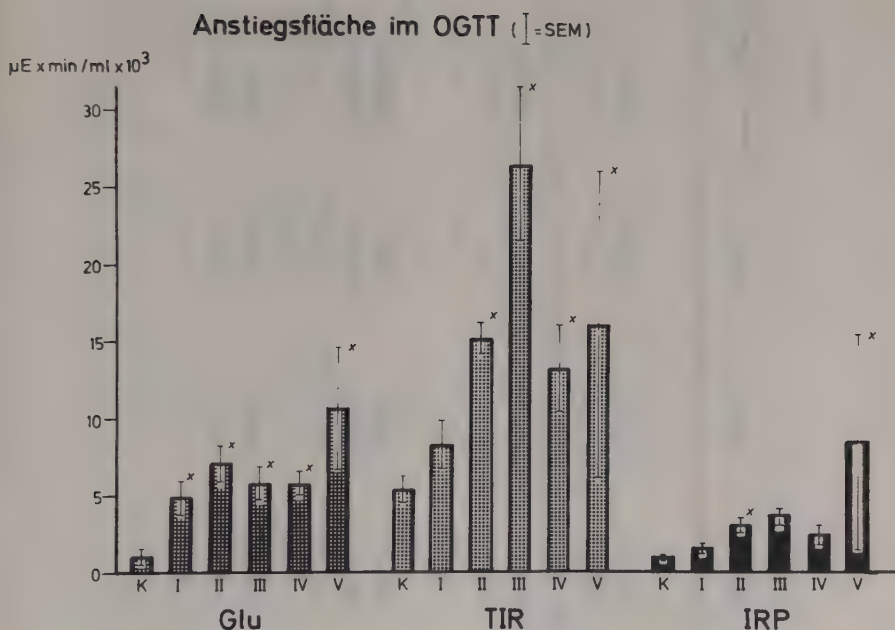


Abb. 7: Mittelwerte der Anstiegsfläche der Ausschüttung von Glukose, Gesamtinsulin und Proinsulin mit Standardabweichungen
 x = Signifikanz gegenüber Gruppe K

BROCA-Gruppe	IRP (μ E/ml)	Fläche				Δ Fläche	
		0'	30'	60'	120'	180'	($\frac{\mu \text{ E} \times \text{Min.}}{\text{ml}}$)

K	$\bar{x}$	10.0	18.5	17.2	15.6	12.8	2799.2
	SD	2.7	5.3	5.8	3.8	2.2	611.3

I	$\bar{x}$	18.4	35.9	38.7	24.4	16.8	5245.0
	SD	19.1	39.6	32.7	10.0	4.1	3481.0
a		19.80	19.68	6.73	2.96 ⁺	0.66 ⁺⁺	6.36
							1725.0
							886.5 ⁺
							1.68 ⁺ %

II	$\bar{x}$	14.5	33.5	43.7	40.8	26.8	6162.5
	SD	3.0	12.8	20.5	14.4	13.5	1850.3
a		0.05 ⁺⁺	0.31 ⁺⁺	0.08 ⁺⁺⁺	0.01 ⁺⁺⁺	0.31 ⁺⁺	0.01 ⁺⁺⁺
							0.01 ⁺⁺⁺ %
							3567.5
							1520.0

III	$\bar{x}$	18.0	30.0	40.6	46.4	36.6	6879.0
	SD	5.2	13.2	21.2	30.7	26.7	3960.5
a		0.01 ⁺⁺⁺	2.58 ⁺	0.68 ⁺⁺	1.03 ⁺	1.85 ⁺	1.26 ⁺
							6.1 %
							3639.0
							3235.8

IV	$\bar{x}$	14.3	21.6	29.3	36.6	23.0	5063.6	2492.1
	SD	3.0	3.8	10.4	20.9	7.4	1877.3	1822.0
	a	0.41 ⁺⁺	18.70	0.35 ⁺⁺	2.71 ⁺	0.59 ⁺⁺	1.26 ⁺	6.10 %
V	$\bar{x}$	18.5	43.0	67.5	90.0	64.0	11925.0	8595.0
	SD	3.5	25.5	53.0	96.2	62.2	10839.9	10203.6
	a	0.12 ⁺⁺	0.26 ⁺⁺	0.10 ⁺⁺⁺	0.30 ⁺⁺	0.19 ⁺⁺	0.18 ⁺⁺	0.39 ⁺⁺ %

Tabelle 4:

Immunologisch meßbares Proinsulin (Mittelwerte, Standardabweichung) im oralen Toleranztest bei Normal- und Übergewichtigen

Legende s. Tab. 1

3.2 Proinsulin

3.2.1 Dynamik und Sekretionsvolumina

Auch die Proinsulinspiegel zeigen in vielen Punkten ein ähnliches Bild; so liegen in den Gruppen II - V die basalen IRP-Spiegel signifikant über denen der Kontrollgruppe. Die Analyse der IRP-Ausschüttung (Fläche) und (Δ Fläche) (s. Abb. 6, 7 und Tab. 4) ergibt, daß die Anstiege nicht so steil verlaufen wie bei TIR. Eine Ausnahme bildet die Gruppe V, da Patient Nr. 55 einen auffallend hohen IRP-Spiegel aufweist (s. Kap. 2.1).

3.3 Verhältnis von Proinsulin zu Gesamtinsulin im Verlauf des Toleranztests

Der Anteil IRP an TIR liegt im Nüchternzustand bei allen Gruppen relativ hoch, maximal 70 % bei den Gruppen K und V (s. Abb. 5). Dieser Anteil sinkt im Verlauf des OGTT auf Werte von ca. 20 % ab, um am Ende der Meßperiode wieder in Richtung des Nüchternwertes anzusteigen, ohne ihn jedoch zu erreichen.

3.4 Maximaverteilung der Serumspiegel

Um die o. a. Verschiebung der TIR/IRP-Maxima hervorzuheben, wurden in Abb. 8 und Tab. 5 die prozentualen Anteile derjenigen Probanden einer Gruppe aufgetragen, die zum jeweiligen Zeitpunkt tx das Maximum ihres Serumspiegels im OGTT erreicht hatten.

Bei TIR wird mit Zunahme des Gewichts der Patienten eine Verlagerung der "peaks" zu späteren Zeitpunkten hin deutlich. Ferner geht die Gleichzeitigkeit der maximalen TIR-Ausschüttung der Patienten verloren. Dies zeigte sich bereits an der Verflachung der mittleren Serumspiegelkurve (Abb. 5). Während bei der Kontrolle noch 69 % der Probanden nach 30' ihre höchste Gesamtinsulinausschüttung hatten, waren in der Gruppe III die Maxima fast gleichmäßig über die Versuchszeit verteilt.

Beim Proinsulin ergibt sich ein anderes Bild. Die Verflachung der Maximaverteilung tritt hier weniger hervor. Es zeigt sich indessen eindeutig eine Verschiebung der höchsten IRP-Werte zu späteren Zeitpunkten hin. So liegen noch 54 % der peaks in der Kontrollgruppe bei 30'; bereits bei Gruppe I ist eine Gleichverteilung über die Zeit zu beobachten und bei Gruppe IV weisen 72 % der Patienten ihren Spitzenspiegel IRP

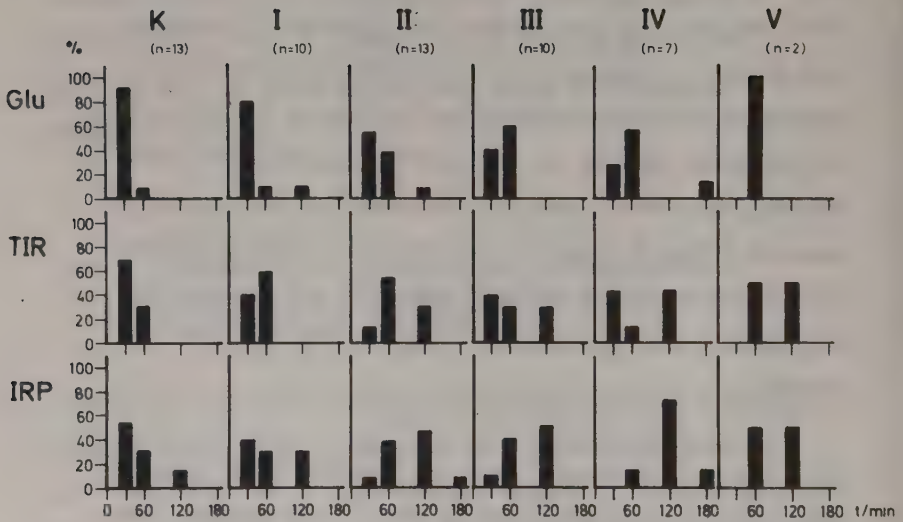


Abb. 8: Prozentuale Verteilung der Maxima der Glukose-, Gesamtinsulin- und Proinsulinspiegel auf die Meßzeitpunkte des Belastungsversuchs

			0	30'	60'	120'	180'
Glucose	BROCA	10	0	<u>92</u>	8	0	0
	BROCA	10-29	0	<u>80</u>	10	10	0
	BROCA	30-49	0	<u>54</u>	38	8	0
	BROCA	50-69	0	40	<u>60</u>	0	0
	BROCA	70-89	0	29	<u>57</u>	0	14
	BROCA	>89	0	0	<u>100</u>	0	0
TIR	BROCA	10	0	<u>69</u>	31	0	0
	BROCA	10-29	0	40	<u>60</u>	0	0
	BROCA	30-49	0	15	<u>54</u>	31	0
	BROCA	50-69	0	<u>40</u>	30	30	0
	BROCA	70-89	0	<u>43</u>	14	<u>43</u>	0
	BROCA	>89	0	0	<u>50</u>	<u>50</u>	0
IRI	BROCA	10	0	<u>69</u>	31	0	0
	BROCA	10-29	0	40	<u>60</u>	0	0
	BROCA	30-49	0	23	<u>46</u>	23	8
	BROCA	50-69	0	<u>50</u>	20	30	0
	BROCA	70-89	0	<u>57</u>	29	14	0
	BROCA	>89	0	0	<u>50</u>	<u>50</u>	0
IRP	BROCA	10	0	<u>54</u>	31	15	0
	BROCA	10-29	0	<u>40</u>	30	30	0
	BROCA	30-49	0	8	38	<u>46</u>	8
	BROCA	50-69	0	10	40	<u>50</u>	0
	BROCA	70-89	0	0	14	<u>72</u>	14
	BROCA	>89	0	0	<u>50</u>	<u>50</u>	0

Tab. 5: Prozentuale Verteilung der Maxima der Glukose-, Gesamtinsulin-, Insulin-, und Proinsulinspiegel auf die Meßzeitpunkte des Belastungsversuchs

erst bei 120' auf.

Der IRI-Spiegel erfährt nur geringfügige Veränderungen.

3.5 Glukose

3.5.1 Dynamik und Sekretionsvolumina

Einzelheiten über den Verlauf des Blutglukosespiegels stehen in Tab. 6 sowie in den Abb. 6, 7 und 8. Die basalen Glukosewerte weichen in keiner Gruppe signifikant von der Kontrollgruppe ab. Erst von den 60'-Werten an ergeben sich statistisch relevante Unterschiede zwischen der Kontrolle und allen anderen Gruppen. Anschaulich liegen diese Ergebnisse in den Flächendarstellungen (Abb. 6 und 7) vor. So ergibt sich für den Glukosegesamtspiegel in den Gruppen I - IV nur ein Flächenzuwachs von maximal 25 %, in der Gruppe V von ca. 80 %. Erst bei der "Anstiegsfläche" (ΔF) Glukose zeigt sich bei den Übergewichtigen Patienten ein deutlich höheres Blutglukosevolumen (Tab. 6, Abb. 7). Während in der Kontrollgruppe der Glukosegehalt des Blutes nahezu konstant bleibt (geringes ΔF), treten in Gruppe I bereits starke Abweichungen auf. Sie lassen sich in ähnlichen Größenordnungen auch in allen Gruppen bis IV weiterverfolgen. Gruppe V zeigt extrem schlecht kompensierte Glukosewerte.

3.5.2 Maximaverteilung

Betrachtet man die Verteilung der zeitlichen Maxima der Blutglukose im Verlauf des OGTT, so fällt auch hier, von Ausnahmen abgesehen, bis zu den 60'-Werten hin eine Verschiebung auf. Der Übergang von Gruppe K bis V verläuft gleichmäßig nach derselben Tendenz wie oben erwähnt, d. h. mit Zunahme des Übergewichtes werden die Höchstwerte des Glukosespiegels zu immer späteren Zeitpunkten erreicht.

3.6 Cholesterin und Triglyceride

In Tabelle 6 und Abb. 9 erscheinen zusätzlich die Nüchternwerte von Cholesterin und Triglyceriden. Daraus geht hervor, daß beim Serumcholesterin nur die Werte der Gruppen II und III erhöht sind, sich aber innerhalb der Norm bewegen.

Bei den Triglyceriden sind ebenfalls in diesen beiden Gruppen signifikant höhere Werte zu erkennen. Insbesondere fällt hier jedoch ein gleichmäßiger Anstieg des Serum-Tgs mit zunehmendem Übergewicht der Patienten auf.

BROCA-Gruppe	Chol. Tg (mg/100ml)	Glucose (mg / 100 ml)			Fläche ΔFläche ($\frac{\text{mgxmin.}}{100 \text{ ml}}$) ($\frac{\text{mgxmin.}}{100 \text{ ml}}$)			I 48
		0'	30'	60'	120'	180'		
K	$\bar{x}$	220.3	142.5	78.8	112.5	91.9	75.1	71.2 15330.0 1151.5
	Se	26.7	38.7	10.0	14.5	17.9	13.5	11.7 1851.6 2150.9
I	$\bar{x}$	238.1	137.5	77.2	134.9	118.3	100.9	71.4 18724.5 4828.5
	Se	49.4	46.5	13.9	30.1	37.7	35.8	22.5 4876.6 3710.9
	a	27.92	78.27	75.53	2.74 ⁺	3.63 ⁺	5.56	97.77 6.33 0.70 ⁺⁺⁺
II	$\bar{x}$	259.0	194.7	77.9	138.8	140.4	111.2	91.6 21070.4 7058.1
	Se	52.5	49.9	13.9	34.0	34.1	42.9	34.9 5422.2 4196.7
	a	2.61 ⁺	0.65 ⁺⁺	84.74	2.46 ⁺	0.01 ⁺⁺⁺	1.34 ⁺	6.93 0.36 ⁺⁺ 0.01 ⁺⁺⁺
III	$\bar{x}$	254.9	212.0	80.2	135.2	139.8	106.9	75.4 20226.0 5790.0
	Se	40.7	72.0	11.1	24.7	30.0	16.5	22.7 2706.6 3564.5
	a	2.25	0.72 ⁺⁺	74.86	1.15 ⁺	0.01 ⁺⁺⁺	0.00 ⁺⁺⁺	57.20 0.00 ⁺⁺⁺ 0.09 ⁺⁺⁺
IV	$\bar{x}$	127.1	176.6	78.9	130.9	136.6	99.9	89.3 19924.3 5730.0
	Se	54.8	74.7	15.9	35.3	43.0	22.5	21.3 4380.5 2205.5
	a	70.85	19.03	98.80	11.32	0.39 ⁺⁺	0.62	2.36 ⁺ 0.38 ⁺⁺ 0.03 ⁺⁺⁺

V	$\bar{x}$	235.0	206.0	88.0	161.0	175.0	153.0	111.0	26535.0	10695.0
Se		7.1	90.5	2.8	12.7	26.9	46.7	63.6	6342.7	5833.6
a		46.50	8.51	22.89	0.06 ⁺⁺⁺	0.01 ⁺⁺⁺	0.01 ⁺⁺⁺	2.64 ⁺	0.01 ⁺⁺⁺	0.04 ⁺⁺

Tabelle 6:

Blutglukose (Mittelwerte und Standardabweichung) im oralen Glukosetoleranztest sowie Basalwerte von Cholesterin und Triglyceriden in den Gewichtsgruppen K - V.

Legende s. Tab. 1

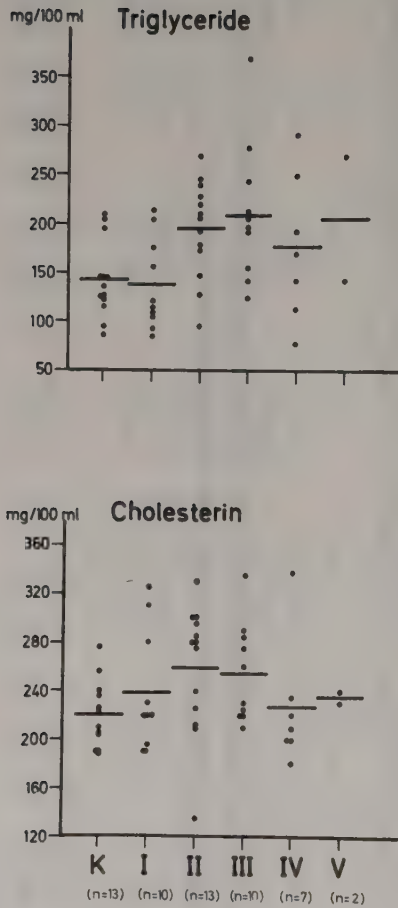


Abb. 9: Cholesterin und Triglyceride, Einzel- und Mittelwerte der Gewichtsgruppen

3.7 Regressionsanalyse und Korrelationen

In Abb. 10 sind vier Regressionsgeraden dargestellt, um den Vergleich zwischen Körpergewicht und der Fläche (F), bzw. Anstiegsfläche (ΔF) von TIR und IRP zu veranschaulichen. Daraus ergeben sich hochsignifikante Korrelationen. Aus der Verteilung der Einzelpunkte resultiert, daß bei sehr hohem Übergewicht vermehrt Punkte unterhalb der Regressionsgeraden liegen.

Abschließend folgt in Tab. 7 eine Aufstellung der errechneten Korrelationskoeffizienten mit den zugehörigen Signifikanzen.

3.8 Befunde nach Reduktionsdiät

Von den 23 Patienten, die ihr Gewicht reduzieren sollten, mußten 5 von der weiteren Bewertung ausgeschlossen werden, da bei dreien die Abnahme nur im 100,0 g -Bereich lag, zwei sogar zunahmen. Der Gewichtsverlust der übrigen 18 Probanden betrug zwischen 1,6 und 17 kg, lag demzufolge im Mittelwert bei 6,3 kg innerhalb von drei Monaten. 6 Probanden wechselten durch die Gewichtsabnahme in tiefere BROCA-Gruppen. Bei vieren von ihnen lagen die TIR- und IRP-Spiegel nach Gewichtsverlust im Streubereich der neuerlangten Gruppe. Von den übrigen 13 Patienten wiesen 4 trotz

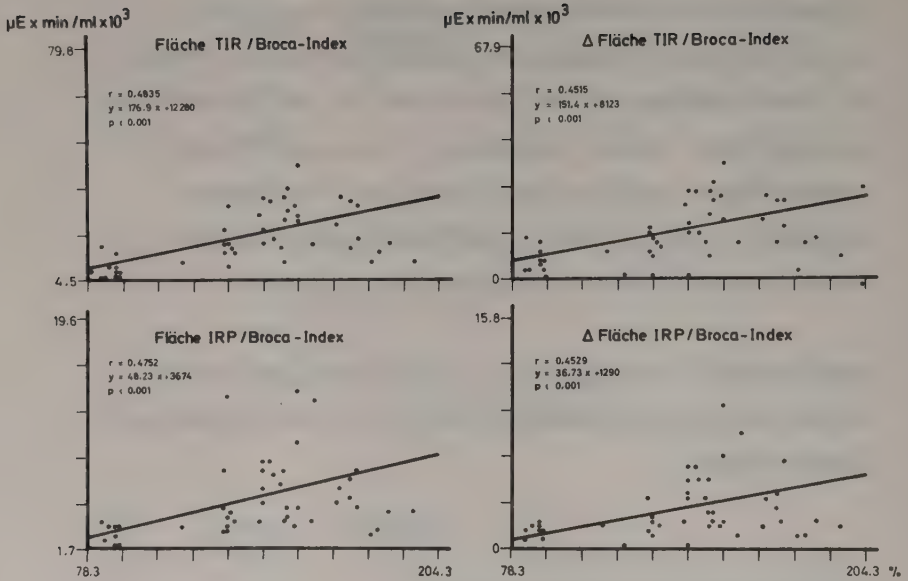


Abb. 10: Regressionsgeraden mit Korrelationskoeffizienten und Signifikanz beim Vergleich der Flächen von Insulin und Proinsulin mit dem Körpergewicht (Broca-Index) unter Glukosebelastung

Abszisse = Körpergewicht in % BROCA

Ordinate = Fläche, bzw. Fläche

r = Korrelationskoeffizient

y = Funktion der Regressionsgeraden

p = Signifikanz

		Gewicht	Cholesterin	Triglyceride
Fläche	TIR	0.4835 +++	0.2713	0.3770 +
Fläche	IRI	0.4192 +++	0.2181	0.3456 +
Fläche	IRP	0.4752 +++	0.3253 +	0.3049 +
Fläche	Gluk.	0.4815 +++	0.1684	0.3443 +
Anstiegs- Fläche	TIR	0.4515 +++	0.2698	0.4028 ++
Anstiegs- Fläche	IRI	0.3779 ++	0.2051	0.3613 ++
Anstiegs- Fläche	IRP	0.4529 +++	0.3234 +	0.3553 ++
Anstiegs- Fläche	Gluk.	0.5285 +++	0.2071	0.3568 ++
Basal	TIR	0.2521		
Basal	IRI	0.2331		
Basal	IRP	0.2512		
Basal	Gluk.	0.0528		
Alter		0.3416 +		

Tab. 7: Korrelationskoeffizienten und Signifikanzen
Signifikanzen siehe Seite 32

Abnahme eine geringfügige höhere Insulinausschüttung (Fläche TIR) auf als vor der Kur. Bei zweien von ihnen war indessen der IRP-Spiegel gesunken. Bei zwei anderen Patienten stieg der IRP-Spiegel während die TIR fiel.

Die Cholesterinwerte sanken im Mittel um ca. 7 %, die Triglyceride stiegen um ca. 5 % an. Tabelle 8 liefert dazu eine Übersicht, Tab. 9 gibt die einzelnen Werte der Probanden vor und nach Durchführung der Diät.

Pat.Nr.	Gewicht (kg)	Gruppen- wechsel	TIR u. IRP gemäß neuer Gruppe	Fläche TIR	Fläche IRP
17	7,5			↓	↓
22	1,6			↑	↑
23	2,0			↓	↑
26	2,9			↑	↓
27	5,0			↓	↓
30	5,0			↑	↑
31	2,0			↓	↓
33	5,0			↑	↓
35	9,5			↓	↓
36	12,0			↓	↓
40	1,6			↓	↓
43	8,0	+	+	↓	↓
44	7,0	+		↓	↑
45	7,1			↓	↓
47	9,0	+	+	↓	↓
48	2,5	+	+	↓	↓
53	17,0	+	+	↓	↓
55	9,2	+		↓	↓

n = 18 $\bar{x} = 6,35$

Tabelle 8:

Übersicht über die Ergebnisse nach Gewichtsreduktion von
18 Probanden

Fall	Alter (a)	Größe (cm)	Gewicht (kg)	Broca (%)	Chol (mg%)	TG (mg%)	TIR ($\mu\text{E} \cdot \text{min} \cdot \text{ml}^{-1}$)	IRP ($\mu\text{E} \cdot \text{min} \cdot \text{ml}^{-1}$)	GLU ($\text{mg} \cdot \text{min} \cdot \text{dl}^{-1}$)	TIR ($\mu\text{E} \cdot \text{min} \cdot \text{ml}^{-1}$)	IRP ($\mu\text{E} \cdot \text{min} \cdot \text{ml}^{-1}$)	GLU ($\text{mg} \cdot \text{min} \cdot \text{dl}^{-1}$)
F												
ΔF												
17	36	181	103,0 95,5	27,2 17,9	325 330	213 349	20220 17775	7830 6510	18720 17400	14820 11475	3300 2730	4680 1200
22	19	162	80,0 78,4	29,0 26,5	190 130	106 185	15315 18195	3930 4230	14475 15480	11895 15315	1590 1710	6375 2880
23	53	168	88,2 86,2	29,7 26,8	220 250	92 156	14220 12705	4515 4935	24450 20925	10260 10005	2535 3495	8250 6525
26	56	152	73,2 70,3	40,8 35,2	330 320	172 235	16005 22395	8340 7740	19170 18900	12945 19335	5640 5760	3690 6300
27	64	161	86,0 81,0	41,0 32,8	240 240	206 123	30960 23865	7560 4890	35790 28560	26100 17535	4500 2190	18510 5520
30	23	159	83,5 78,5	41,5 33,1	280 240	220 355	16485 17700	5190 5715	15930 20775	13245 15000	3570 3915	5130 8175
31	23	167	96,5 94,5	44,0 41,0	295 260	270 312	29970 29415	8550 7980	20550 27570	26010 24375	5850 5100	9390 14250
33	25	180	118,0 113,0	47,5 41,3	280 265	210 220	13560 17550	6540 6375	15900 22125	9960 14130	3480 4035	6180 7725
35	23	165	96,5	48,5	135	95	23505	5730	21540	18285	2490	4980

40	73	164	98,3	53,6	335	277	41700	10155	21450	34140	6555	7770
			96,7	51,1	295	170	27195	7395	18450	22335	4515	2250
43	43	168	108,0	58,8	210	142	16305	3540	18480	10905	660	3000
			100,0	47,1	210	142	15675	3435	16020	10275	375	2700
44	48	163	101,0	60,3	284	206	79800	13005	24420	67920	7965	11460
			94,0	49,2	275	192	24300	13410	34500	16740	9090	20100
45	39	163	106,0	68,4	260	124	21705	5100	15750	17205	1320	990
			98,9	57,0	265	149	19710	3810	15600	15210	2010	1200
47	25	187	150,0	72,4	220	249	30045	6840	28425	23025	3780	8625
			141,0	62,1	150	135	11505	3180	23550	1245	840	7350
48	40	160	102,5	70,8	245	142	13710	5895	18750	10110	3015	6150
			100,0	66,7	270	291	13305	4995	22470	9885	2295	7710
53	52	161	114,0	86,9	210	291	15450	4530	21000	11490	1830	4800
			97,0	59,0	140	142	6735	4320	21360	3675	1440	6240
55	43	160	122,5	104,2	240	270	31560	19590	31020	26520	10710	15810
			113,3	88,8	235	326	22770	14595	28650	17370	9195	14250

Tabelle 9:

Einzelwerte der 18 Probanden im oralen Belastungstest vor und nach dreimonatiger Reduktionsdiät

4 Diskussion

4.1 Vorbemerkung

Fett als Energiespeicher und zum thermischen wie mechanischen Schutz stellt für das Überleben auch des heutigen Menschen eine unabdingbare Voraussetzung dar. Wenn jedoch die Menge der in den Fettgewebezellen gespeicherten Neutralfette ein über der Norm liegendes Maß annimmt, so muß dieser Zustand als pathologisch und die Lebenserwartung einschränkend angesehen werden (131).

Besonders die dadurch bedingten Störungen der endokrinen Funktionen und des Stoffwechsels führen sekundär oft zu lebensbedrohenden Erkrankungen, z. B. Gefäß- und Kreislaufschäden. Schon 1922 wiesen PAULLIN und SAULS (96) auf den Zusammenhang zwischen gestörter KH-Toleranz und Fettsucht hin. Seit rationelle Methoden zur Insulinbestimmung verfügbar sind, konnte man diese Zusammenhänge weitgehend aufklären. So geht zweifellos körperliches Übergewicht als Ausdruck einer unausgeglichene positiven Energiebilanz (35) mit basalem und reaktivem Hyperinsulinismus einher (4, 5, 23, 34, 44, 57, 62, 70, 77, 81, 84, 93, 98, 101, 102, 135). Dieser Zusammenhang läßt sich schon an Kindern und Jugendlichen beobachten (73, 97, 120).

Aus diesen Tatsachen muß konsequent geschlossen werden, daß Hyperinsulinismus als ein Charakteristikum der Adipositas zu betrachten ist (65, 67, 84).

Bevor die Ergebnisse im einzelnen diskutiert werden, soll kurz auf die technischen Unvollkommenheiten der angewandten Methode eingegangen werden.

4.2 Methodische Fehler

Über die Fehler des OGTT wird nicht berichtet, denn dazu steht genügend einschlägige Literatur zur Verfügung. - Wie von GRABNER und Mitarb. (51) gezeigt wurde, liegt die untere Nachweisgrenze für Insulin bei einer analogen Methode bei etwa $2 \mu\text{E/ml}$. Die Toleranz beträgt hiernach im Durchschnitt $\pm 15 \%$, im unteren Bereich $\pm 30 \%$.

Die eigenen Untersuchungen sowie die Erfahrungen von HAUSMANN und KLIMEK (58) zeigten, daß eine der Fehlerquellen in der Bereitung der Standardreihe liegt, da man sich hier schon in Bereichen bewegt, bei denen ohne silikonsierte Geräte kaum noch exakt verdünnt werden kann. Eine zweite Fehlerquelle bei wohl allen ähnlichen Methoden ist im **Abtrennen** des Präzipitats zu suchen.

Hier können sicher mit einer automatischen Methode bessere Ergebnisse erzielt werden. So sind die Abweichungen der Dreifachbestimmung voneinander zum großen Teil auf den Filterprozeß zurückzuführen. Die dritte Ursache der Ungenauigkeit liegt in der graphischen Ermittlung des Pro- sowie Insulingehalts, jedoch sind die hierbei auftretenden Ablesefehler gering im Vergleich zu den vorher beschriebenen.

Da indessen in einem Ansatz immer alle Werte einer Belastungsreihe eines Patienten gemessen wurden, ergab sich für diesen eine wesentlich geringere Fehlerquote des zeitlichen Verlaufs der TIR- und IRP-Spiegel und des Verhältnisses TIR/IRP.

4.3 Basale und reaktive Gesamtinsulinspiegel im Vergleich mit der Literatur

In der vorliegenden Arbeit konnte die Abhängigkeit der stimulierten Insulinantwort vom Körpergewicht eindeutig nachgewiesen werden. Sowohl die Nüchternwerte, hauptsächlich aber die reaktiven Insulinwerte sind bei den Gruppen I - V der Fettsüchtigen stark erhöht.

Übersichtlich wird dies durch die Flächendarstellung

sowohl der insgesamt ausgeschütteten Insulinmenge, die als Fläche TIR ausgedrückt ist, als auch derjenigen Insulinmenge, die vom basalen Zustand ausgehend als Mehrleistung des Pankreas zur Kompensation der Erhöhung des Blutzuckerspiegels aufgebracht werden muß und die als Anstiegsfläche TIR bezeichnet ist. Zwischen diesen Flächen einerseits und dem Grad der Fettsucht andererseits konnte bei mittlerer Korrelation eine statistisch hochsignifikante Beziehung festgestellt werden. BAGDADE und Mitarb. (4) bestätigen, daß der Anstieg der sezernierten Insulinmenge vom Basalwert aus einen empfindlicher Indikator für den Grad des Hyperinsulinismus darstellt. EL-KHODARY und Mitarbeiter (34) fanden beim Vergleich Gesamtinsulinausschüttung zu Körpergewicht weniger eindeutige Ergebnisse ($p < 0,02$), jedoch war die Abhängigkeit beim Vergleich mit dem Körperfettgewebsanteil ebenfalls hochsignifikant ($p = 0,001$, $r = 0,83$). Zu ähnlichen Ergebnissen kam auch JØRGENSEN (65).

Der von PERLEY und KIPNIS (98) bei gleicher Methodik gefundene Wert des ausgeschütteten Gesamtinsulins ($7580 \mu\text{E/ml} \times \text{min}$) deckt sich in den Kontrollgruppen fast exakt mit den Werten dieser Untersuchung. Ebenso entsprechen die von beiden angegebenen TIR-Werte in der Gruppe der Adipösen den hier erarbeiteten Meßergebnissen größenordnungsmäßig.

SCHULTZ (120) fand eine Abhängigkeit zwischen dem errechneten Körperfett und der errechneten basalen Insulinmenge in der gesamten Extrazellulärflüssigkeit des Körpers.

Ferner zeigten BJØRNTORP und Mitarbeiter (10) eine Abhängigkeit der Insulinproduktion weniger vom Körper- bzw. Fettgewicht und von der Anzahl der Fettzellen, als vielmehr vom Durchmesser der Fettzellen auf. Ähnliche Vermutungen waren zuvor von anderen (4, 5, 11, 68, 115) geäußert worden. Die unterschiedlichen Bezugspunkte bei den angeführten Untersuchungen erklären die Differenzen der Ergebnisse und verbieten den unmittelbaren Vergleich.

Der Basalwert der TIR wird von PERLEY und KIPNIS (98) als individuelle Konstante betrachtet. Es fällt auf, daß die Nüchternwerte mit zunehmendem Körpergewicht nicht in dem Maße ansteigen wie z. B. bei den TIR-Spiegeln im OGTT gezeigt werden konnte. Die TIR-Basalwerte der Fettsüchtigen liegen dieser Arbeit zufolge durchschnittlich im Maximum 130 % über denen der Kontrollgruppe. Zu ähnlichen Resultaten, sowohl was die Relation der TIR-Basalwerte zwischen den einzelnen Gruppen als auch die absolute Höhe der Basalspiegel betrifft, gelangten auch:

TIR ₀ , $\bar{x}$ (μ E/ml)		
	normal	adipös
BAGDADE (4)	15	36
EL-KHODARY (34)	11	25,5
JØRGENSEN (65)	ca. 14	25,2
KLÄHN	14,5	27,7

Da bei PERLEY und KIPNIS (98) die Basalspiegel im Normalkollektiv sehr niedrig liegen ($\bar{x} = 4,4 \mu$ E/ml), betragen die Unterschiede zu den entsprechenden Werten der Adipösen bis zum 300 %. Im Vergleich zu den um teilweise mehr als 700 % erhöhten TIR-Spiegel der Fett-süchtigen unter Glukosebelastung kommt der Hyperinsulinismus im Nüchternzustand nicht so ausgeprägt zur Geltung. Zwar liegen die Basalwerte der Übergewichtigen ab Gruppe II statistisch hochsignifikant über denen der Kontrollgruppe, es konnte jedoch kein direkter Zusammenhang zwischen dem Mehrgewicht und dem Basalinsulin nachgewiesen werden wie ihn z. B. BAGDADE und CORNELL (5) ($r = 0,72$, $p < 0,001$) sowie EL-KHODARY und Mitarbeiter (34) ($r = 0,515$, $p < 0,05$, $n = 5$) angeben.

Betrachtet man die Regressionsgeraden von (5) und (34), so findet man keine kontinuierliche Verteilung der Punkte entlang der Geraden, sondern eine Verdichtung im Bereich der Normalgewichtigen sowie eine weitere im Bereich der etwa 40 - 60 % Übergewichtigen. Diese Beobachtung stimmt mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit überein, d. h. einerseits, daß es bis zu einem bestimmten Körpergewicht im Nüchternzustand bei einem normalen Insulinspiegel bleibt, andererseits, daß sich ab einem höheren Grad von Übergewicht der basale Insulinspiegel auf erhöhtem Niveau mit relativ kleiner Variationsbreite bewegt.

Wenn der Hyperinsulinismus im Basalspiegel weniger stark zum Ausdruck kommt als bei Glukosebelastung der Patienten, so läßt sich dies daraus erklären, daß der Nüchternzustand als eingependelter Zustand im Blutzuckerregelkreis aufgefaßt werden kann. Zur Aufrechterhaltung dieses Zustandes genügen, sofern keine erheblichen Störungen des Gleichgewichtes eintreten, kleine kontinuierlich ausgeschiedene Insulinmengen (37). Selbst wenn, durch Übergewicht bedingt, die Regelempfindlichkeit nachläßt, reicht eine wenig erhöhte ständige Insulinausschüttung zur Einpendelung aus. Wird durch Glukosegabe im OGTT der Blutzuckerregelkreis jedoch stark belastet, so führt

die bei den übergewichtigen Patienten schlecht ansprechende Regelung zu einer stark vermehrten Insulinausschüttung. Dies könnte den weitaus steileren Anstieg der reaktiven Insulinwerte gegenüber den basalen Insulinwerten der Fettsüchtigen deuten.

Allerdings verflacht der steile Anstieg des reaktiven Insulins ab einem Übergewicht von ca. 70 % wieder, um in den Gruppen IV und V sogar unter die Werte der mittleren Gruppen abzufallen. Da bei diesen Patienten die Glukosetoleranz bereits beeinträchtigt ist, könnte es sich in diesen Fällen um eine Erschöpfung der Funktion der β -Zellen des Pankreas handeln. Fläche- und Anstiegsfläche TIR, der verzögert erreichte Maximalwert und der lang anhaltende Blutzuckerspiegel deuten darauf hin, daß hier die Leistungsfähigkeit der Insulinproduktion eine Grenze erlangt hat (23), (s. Bild 6 und 7 sowie Tab. 5). Die Gewichtsgrenze liegt statistisch bei Gruppe III. Sie ist individuell unterschiedlich und sehr wahrscheinlich genetisch bedingt. Die im vorliegenden Regressionsdiagramm (Fläche + Δ Fläche TIR zu BROCA, s. Bild 10) aufgezeigte ungleichmäßige Verteilung der Einzelpunkte weist bei etwa 160 % BROCA eine Art Maximum der gedachten Mittelwertskurve auf. Dies unterstützt die vorigen Feststellungen sehr anschaulich, unabhängig von Werten, die durch eine relativ grobe Einteilung in Gewichtsgruppen ermittelt wurden.

Bis zu einem Übergewicht von ca. 70 % wird der Blutglukosespiegel noch mit zum Teil exzessiven Insulinmengen reguliert. Die Neigung zu hohen reaktiven Gesamtinsulinwerten im Belastungstest beginnt in Gruppe I aufzutreten, d. h. daß schon ein geringes Zuviel an Fett deutlich pathologisch ist. Dies wird auch durch die Anstiegsfläche Glukose im OGTT veranschaulicht, die in Gruppe I fast auf das Fünffache der Höhe des Normalkollektivs angewachsen ist. Schon hier kann der Glukosespiegel im Blut nicht mehr konstant gehalten werden.

BAGDADE und CORNELL (5) schreiben dem erhöhten Plasma-insulinspiegel der Adipösen eine positive Schutzfunktion zu. Er soll durch Verminderung der Lipolyse aus den Fettdepots sowie durch Unterbindung der Ketonkörperproduktion aus freien Fettsäuren der Entwicklung einer Ketose vorbeugen.

Die Erklärung der Leistungsbegrenzung des Pankreas scheint zunächst im Widerspruch zu stehen mit den Befunden von Gruppe IV und V. Während bei einer Leistungsbegrenzung die Insulinausschüttung auf dem stimulierten hohen Niveau stehen bleiben müßte, fallen die Insulinwerte in den Gruppen IV und V ab. Untersuchungen von SCHULTZ (120) ergaben, daß das Übergewicht mit der Dauer der Fettsucht ansteigt.

Folglich sind die Probanden mit dem höchsten Übergewicht auch am längsten übergewichtig. Die meist jahrelange Stimulation zur Höchstleistung führt wahrscheinlich zu einer fortschreitenden Erschöpfung der Synthese- bzw. Sekretionsfähigkeit der β -Zellen (23). RASTOGI und Mitarbeiter belegen dies durch Messungen des Insulingehaltes von Bauchspeicheldrüsen (104). Parallel hierzu verläuft die Beobachtung von CERASI und Mitarbeitern (19), die eine im Prädiabetes auftretende, abnehmende Sensitivität der β -Zellen beschrieben, welche als Schutzfunktion den Pankreas vor einer totalen Erschöpfung der Insulinreserven bei geringsten Glukosereizen bewahren soll.

Zu ähnlichen Folgerungen über Anstieg und Abfall des Gesamtinsulinspiegels gelangten BAGDADE und Mitarb. (4) sowie DRASH (30). WEINGES und Mitarbeiter formulierten: "Es besteht somit bei Übergewichtigen Patienten ein fließender Übergang von noch normaler Glukosetoleranz mit Hyperinsulinismus über Glukosetoleranzstörungen mit erhöhtem, normalem oder erniedrigtem Insulinplasmaspiegel bis zum manifesten Insulinmangeldiabetes." (135). In die gleiche Richtung wie SCHULTZ (120) weisen Feststellungen von BJÖRNTORP und Mitarb. (10), nämlich daß mit zunehmendem Alter das Körpergewicht, wenn auch nicht in starkem Maße, ansteigt. Gleiche Konsequenzen gehen

aus den Werten der Korrelation Alter/Gewicht ($p \leq 0,05$) dieser Arbeit hervor. Die Ursache dafür dürfte in der mit dem Alter zunehmenden Nahrungsaufnahme und der gleichzeitig abnehmenden körperlichen Aktivität zu suchen sein.

4.4 Ursachen des Hypersinsulinismus

Für das Auftreten eines Hyperinsulinismus scheinen eine ganze Reihe von Faktoren verantwortlich zu sein. Am Anfang steht nach Untersuchungen von LAUBE und Mitarbeitern (76) sowie nach Meinung von KIPNIS (70) die Aufnahme eines prozentual großen Anteils von Kohlenhydraten in der Nahrung, besonders von Mono- und Disacchariden. Diese Zusammensetzung wird erfahrungsgemäß von Übergewichtigen bevorzugt (76, 132). LAUBE und Mitarbeiter berichten, daß schon nach wenigen Tagen der kohlenhydratreichen Ernährung, besonders wenn sie hyperkalorisch ist, neben Serumcholesterin und Triglyceriden die Blutzucker- und Insulinspiegel ansteigen. Als sekundäre Adaptation an diesen primären Hyperinsulinismus sinkt nach CHILES, TZAGOURNIS (23) und anderen (52, 135) die periphere Insulinempfindlichkeit wegen Überreizung und um den Körper vor intermittierender Hypoglykämie zu schützen (70). Es stellte sich im Tierversuch und in vitro am Fettgewebe eine Resistenz ge-

gegen Insulin heraus (3, 5, 80, 115, 135). Auch die Muskulatur scheint für die Insulinwirkung unempfindlicher zu werden (101, 103). Im Gegensatz dazu fanden FROHMAN und Mitarbeiter (43) bei Versuchen an Ratten keinen Fettgewebswiderstand gegen Insulin.

Als regulativer Ausgleich gegen die peripher herabgesetzte Insulinwirksamkeit steigt der Insulinspiegel weiter an (34, 35, 70, 77, 97). Hinzu kommt ein bereits 1968 von PAULSEN und seinem Team (97) vermutetes, 1973 von JACOT und Mitarbeitern (63) beobachtetes Phänomen, daß bei Übergewichtigen Jugendlichen nach sehr kleiner intravenöser Glukosegabe die Sekretionsschwelle des Pankreas für Insulin erniedrigt ist. Zwar halten JACOT und Mitarb. (63) dies für eine Sekundärererscheinung, dennoch löst auch dieser Mechanismus eine Erhöhung des Insulinspiegels aus.

Vermutungen, beim Hyperinsulinismus der Adipösen werde ein minderwertiges, weniger wirksames Insulin ausgeschüttet, konnten bis heute nicht bestätigt werden (35) sondern sind teilweise widerlegt worden (3).

Die zellständige Insulinresistenz gilt heute als gesichert. Bei der normalen Zelle wird das Insulin

an Rezeptoren der Zelloberfläche gebunden und übt von da seine Wirkung aus (3, 16, 41, 42). Dabei wird die Permeabilität der Zellmembran für den Glukosetransport, den Aminosäuredurchtritt und den Kaliumaustausch verändert. Der gesamte Zellstoffwechsel ändert sich, wahrscheinlich über einen oder mehrere "second messenger". Die Insulinresistenz der Zellen bei Adipösen ist vermutlich durch gestörte Rezeptoren bedingt (3). Nach ENGELHARDT (35) kann auch eine beschleunigte Inaktivierung des Insulins am Rezeptor als Ursache angesehen werden.

Faktoren die sich in diesem Sinne als kontrainsulinäre Aktivitäten auswirken, sind neben verschiedenen anderen Hormonen insbesondere das Wachstumshormon (STH), das Adrenocorticotrope Hormon (ACTH) und daraus folgend die Nebennierenrindenhormone sowie die freien Fettsäuren (FFA).

So behindern erhöhte freie Fettsäuren die Glukoseaufnahme in die Muskelzellen und setzen damit die Insulinwirkung herab (47, 133).

Bei Akromegaliekranken und Patienten mit Morbus Cushing fanden sich erheblich überhöhte TIR-Spiegel. Diese können auch bei Gesunden durch STH-Gabe hervorgerufen werden (99). Durch das Wachstumshormon

wird die periphere Glukoseutilisation gehemmt. Schließlich steigern sowohl STH als auch die Nebennierenrindenhormone die Freisetzung von Fettsäuren aus dem Fettgewebe (133). So wurden bei Adipösen deutlich überhöhte Cortisol-Spiegel und damit gesteigerte FFA-Mengen gegenüber der Norm gemessen (8). Wahrscheinlich wirken sich die erwähnten Hormone zusätzlich sensibilisierend auf die β -Zellen gegenüber Nahrungsreizen aus (99), so daß der Hyperinsulinismus in seiner unmittelbaren Genese multifaktoriell bedingt ist.

Zu Beginn der Fettsucht steht die Mono- und Disaccharidreiche Überernährung! Die aufgenommenen Kohlenhydrate, die sehr schnell vom Magen-Darmkanal resorbiert werden, bilden einen massiven Reiz zur erhöhten Insulinausschüttung (76). Sobald die körpereigenen Reserven vollständig aufgefüllt sind, werden die überschüssigen Kohlenhydrate von den Fettzellen aufgenommen und zu Körperfett umgewandelt (16, 63, 80). Gleichzeitig wird durch den hohen Insulingehalt die Lipolyse eingeschränkt (35). Damit hat sich ein Kreis geschlossen:

Überernährung $\rightarrow$ Fettansatz, bzw. Übergewicht;
Ansteigen des Insulinspiegels $\rightarrow$ verminderter
Fettabbau $\rightarrow$ weiteres Übergewicht (135).... Diese

Tatsache wird durch die Beobachtung von SCHULTZ (120), daß Dauer der Fettsucht und Ausmaß des Körperfetts proportional verlaufen, bestätigt. Der aufgezeigte circulus vitiosus kann an zwei Stellen unterbrochen werden:

- 1) Verminderung der KH-Zufuhr, bzw. Hungern (s. S.).
- 2) Senkung des Insulinspiegels durch Erschöpfung des Pankreas → Diabetes.

4.5 Triglyceride und Cholesterin bei Adipösen

Die aus den Meßwerten hervorgehende Erhöhung der Triglyceride verläuft parallel zum Grad des Hyperinsulinismus. Es errechnete sich eine signifikante Korrelation zwischen Triglyceriden und der Fläche sowie der Δ Fläche-TIR. Andere Autoren (52, 76, 77) kamen zu ähnlichen Resultaten. Eine Abhängigkeit zwischen Glukosetoleranz und Hypertriglyceridämie, wie sie ENGELHARDT (35), SJÖSTRÖM und BJÖRNTORP (122) angegeben haben, wurde nicht gesehen. CHILES und TZAGOURNIS (23) vermuten, daß eine überschießende Insulinsekretion eine verstärkte Triglyceridsynthese der Leber hervorruft, unabhängig von der KH-Toleranz. Unsere Meßergebnisse sprechen stark für diese zweite Hypothese. Aus Abb. 9 (Chol. und TG) ist der parallele

Verlauf der mittleren Triglyceridspiegel zu den Insulinspiegeln sehr deutlich zu ersehen.

Über das Cholesterin ließ sich aus der vorliegenden Meßreihe nur wenig folgern. Die Regressionsanalyse zeigt, daß die Cholesterinwerte in signifikanter Weise nur mit den IRP-Spiegeln verknüpfbar sind. Über die Bedeutung dieser Beobachtung läßt sich keine Aussage machen.

4.6 Basale und reaktive Proinsulinspiegel im Vergleich mit der Literatur - Analyse unterschiedlicher Meßergebnisse

Über das Verhalten des Proinsulins bei Adipösen existieren bisher nur wenige Untersuchungen. Diese Arbeiten stützen sich wiederum nur auf wenige Versuchspersonen, so daß eine statistische Aussage kaum gesichert ist.

Indessen wurde von Beginn der Entdeckung des Proinsulins an dem basalen Proinsulinwert große Aufmerksamkeit geschenkt, da sich zeigte, daß der Anteil des Proinsulins am basalen Gesamtinsulinspiegel beachtlich ist. Es stellte sich heraus, daß der Proinsulinanteil am TIR im basalen Zustand am höchsten ist (48, 113).

Die in der Literatur angegebenen Relationen variieren jedoch stark.

Ergebnisse des basalen Proinsulinanteils an TIR, die mit gelchromatographischen Methoden ermittelt wurden:

- 1) GOLDSMITH und Mitarb. (46) fanden maximal 20 % Proinsulin in TIR.
- 2) HORWITZ und Mitarb. (59) gaben zwischen 9 % und 15 % für normalgewichtige Personen an.
- 3) MELANI und Mitarb. (86) konnten Werte zwischen 5 % und 48 % messen
- 4) Bei GORDEN und Mitarb. (48) liegen die Werte für gesunde Probanden zwischen 10 % und 40 %.

Durchweg höher liegen die prozentualen Proinsulinanteile am basalen TIR-Spiegel bei Untersuchungen, die mit der ISP-Methode durchgeführt wurden:

- 1) DUCKWORTH und Mitarb. (32) fanden bei 30 normalgewichtigen Probanden einen Proinsulinanteil von 59 % im Mittel
- Bei 5 Fettsüchtigen mit einem Übergewicht von 40 - 70 % ergaben sich Proinsulinanteile von 44 %.

- 2) KITABCHI und Mitarb. (74) nennen bei nur 4 untersuchten Personen anteilige Proinsulinwerte von 27, 33, 50 und 75 %.
- 3) In der vorliegenden Arbeit wurden folgende basalen Proinsulinanteile gemessen:
 - a) Bei 13 Probanden der Kontrollgruppe lag der Mittelwert bei 70 %.
 - b) Bei den Adipösen sank der Wert auf ca. 60 %.

DUCKWORTH und Mitarb. (31) stellten auch in Tierversuchen basale IRP-Werte zwischen 60 - 80 % fest, die unter Stimulation abfielen.

Demnach sind die Ergebnisse unserer Arbeit analog zu den Resultaten von DUCKWORTH. Zumindest zeigt die vorliegende Untersuchung eindeutig, daß in allen Gewichtsgruppen der Anteil des basalen Proinsulins mehr als 60 % der TIR beträgt (74, 111, 113).

Eine Erklärung für diese hohen basalen Proinsulinspiegel sehen einige Autoren (59, 74, 112) darin, daß die Elimination des Insulins in der Leber schneller erfolgt als die des Proinsulins. So beträgt die Halbwertszeit von Insulin im Kreislauf 4,8 Minuten (125), bzw. 6 - 8 Minuten (130), während die für Proinsulin mit 17,2 bzw. 18 - 20 Minuten angegeben ist.

Die aktuellen Insulin- und Proinsulinspiegel sind nicht nur einseitig als Folge der Pankreassekretion aufzufassen, sondern sie stellen ein Gleichgewicht zwischen der Sekretion im Pankreas und der Elimination in der Leber dar (59).

Bei den Wertdifferenzen zwischen den zwei verschiedenen Meßverfahren handelt es sich offenbar um eine methodische Diskrepanz, über welche bereits Untersuchungen angestellt worden sind (74). Die Unterschiede entstehen vermutlich durch die sowohl chemisch-biologisch als auch physikalisch unterschiedliche Behandlungsweise. Den chromatographischen Methoden, denen häufig noch eine Alkohol-Säure-Extraktion vorausgeht und die durch ihre lange Laufzeit sowie umfangreiche Apparatur Schwierigkeiten mit der Kühlung haben, dürfte ein dadurch bedingter Verlust an Proinsulin anzulasten sein. Der Arbeit von CRESTO und Mitarb. (28) zum Methodenvergleich ist in der Konsequenz nicht zuzustimmen, da es dem Team nicht gelang, eine ISP des Reinheitsgrades herzustellen, der von BRUSH (13) und von uns erreicht wurde. Die mangelhafte Reinheit der Protease führte zu verschiedenen Ungenauigkeiten, unter anderem auch zu einer teilweisen Spaltung von Proinsulin. Dennoch fanden CRESTO und Mitarb. eine hochsignifikante Korrelation zwischen den IRP-Werten der enzymatischen und chromatographischen Methode.

Die eigenen nach dem enzymatischen Verfahren gewonnenen Ergebnisse sind im Vergleich mit den gelchromatographischen Resultaten etwas zu hoch (75). Dies liegt an der unvollständigen Insulinspaltung durch die Protease. Ca. 10 % Restinsulin, die nicht gespalten wurden, verändern das Verhältnis IRP/TIR bei hohen Proinsulinanteilen nur unbedeutend, doch die niedrigen Proinsulinwerte liegen zu hoch, z. B.:

IRP = 70 % von TIR: Fehlerquote ca. 3 %

IRP = 30 % von TIR: Fehlerquote ca. 25 %

Dies ist beim direkten Vergleich der Ergebnisse beider Methoden zu beachten.

Im übrigen ergibt sich bei der Verwendung von Proinsulin als Standard für die Proinsulinmessung ein anderes Verhältnis von IRP/TIR. Dies ist jedoch ein Faktor, der für beide angeführten Methoden gleichermaßen gilt.

Vergleicht man die basalen IRP-Spiegel der verschiedenen Gruppen miteinander, so läßt sich ein signifikanter Anstieg von der Kontrollgruppe zu den Übergewichtigen ganz allgemein beobachten (ähnlich 86). Dabei spielt Gruppe I eine Übergangsrolle, denn trotz einiger stark erhöhter basaler Proinsulinspiegel bleibt

im Mittel kein signifikanter Aussagewert. Eine Korrelation zwischen den basalen IRP-Werten und dem Ausmaß des Übergewichts ist ebensowenig wie beim basalen Gesamtinsulin erkennbar.

Im Toleranztest liegen die IRP-Spiegel der Gruppen II - V generell signifikant höher als in der Kontrollgruppe. Etwas verzögert treten in Gruppe I signifikant erhöhte Werte erst ab 120' auf. Auch MELANI und Mitarb. (86) fanden bei Hyperinsulinismus erhöhte Proinsulinausschüttungen im OGTT. Die Korrelationsanalyse weist eine hochsignifikante Proportionalität zwischen Körpergewicht und der Fläche- bzw. Anstiegsfläche-IRP nach. Die höchsten Proinsulinwerte wurden auch hier bei 160 % BROCA gemessen. Der Verlauf ist insgesamt jedoch weniger steil als beim Gesamtinsulin.

Obwohl das Proinsulin offensichtlich einer ähnlichen Sekretionsdynamik folgt wie das Gesamtinsulin, ist der Anstieg der TIR nach Stimulation dennoch hauptsächlich auf den Insulinanteil (IRI) zurückzuführen (86, 113). Der prozentuale Anteil IRP liegt bei allen Gruppen im Maximum der TIR-Spiegel nur noch bei 16 - 28 %. Das Verhältnis Proinsulin zu Insulin bleibt sich also bei allen Gruppen zum Zeitpunkt des TIR-Maximums ähnlich (31, 49, 86).

Die Vermutung, daß der prozentuale Anteil IRP bei Adipösen zu den Zeitpunkten 15' und 30' höher liege als in der Kontrollgruppe (49), ließ sich durch unsere Werte nicht belegen. Allenfalls für Gruppe III träfe dies mit mäßiger Wahrscheinlichkeit zu und dürfte insofern keine allgemeine Aussage erlauben.

4.7 Vergleich der Sekretionsprofile von Gesamtinsulin und Proinsulin

Bemerkenswert ist ferner, daß die Proinsulinspiegel ihr Maximum später erreichen als die Gesamtinsulinspiegel (111). Während diese Erscheinung in der Kontrollgruppe noch unauffällig ist, wird die zeitliche Differenz der Maxima TIR und IRP mit zunehmendem Körpergewicht größer. In den Gruppen III und IV beträgt der Zeitunterschied zwischen erreichtem TIR-Maximum und dem IRP-Höchstwert für über 50 % der Probanden bereits 90 Minuten!

Auch hierfür sehen einige Autoren (59, 112, 113) eine Erklärung in der unterschiedlichen Halbwertszeit von Insulin und Proinsulin, wie auf Seite 74 beschrieben.

Obwohl sich die Zeit der Metabolisierung sicherlich auf die Dynamik der Ausschüttung auswirkt (59), dürfte eine so große Verzögerung (bis zu 90 Minuten) nicht allein auf unterschiedliche Halbwertszeiten zurückzuführen sein, zumal es sich dabei nur um einen Unterschied von ca. 12 Minuten handelt.

Es muß daher ein zweiter Faktor für die Maximaverschiebung verantwortlich sein. Die Vermutungen gehen dahin, daß in der Frühphase der Insulinausschüttung, wenn der Insulinbedarf am größten ist, eine raschere und vollständigere Umwandlung des Proinsulins stattfindet, bzw. daß durch die hohe Proinsulinutilisation der Anstieg zunächst verzögert wird. Daraus folgt, daß mit steigendem Körpergewicht durch die wachsende Insulinnachfrage der Proinsulinspiegel gegenüber der TIR zurückbleibt und sein Maximum zu immer späteren Zeitpunkten im OGTT erreicht.

4.8 Gewichtsreduktion und ihre Bedeutung für die Therapie des Diabetes mellitus

Das Problem der Fettsucht wurde bisher von verschiedenen Seiten angegangen. Bis auf die direkt chirurgischen Maßnahmen (25, 60, 78) stützen sich alle an-

deren Behandlungspläne auf eine Reduktion der aufgenommenen oder der resorbierten Nahrungsmenge (30, 78). Wie beschrieben, ist das der einzige Weg, um aus dem Kreis der Fettsucht auszubrechen.

Die bei der laufenden Untersuchung ambulant durchgeführte 1000 cal. Reduktionsdiät besitzt den Nachteil, daß ihre Einhaltung schlecht kontrollierbar ist. So wurde bei einigen Patienten keine Gewichtsabnahme erreicht, es mußte im Gegenteil eine Zunahme festgestellt werden. Dadurch schieden diese Probanden aus dem Versuch aus. Der sehr geringe Gewichtsverlust weiterer Teilnehmer, der noch als physiologisch angesehen werden kann, brachte dementsprechend keine Änderung der Blutparameter. Insgesamt haben von 18 Probanden 14 ihre TIR- und IRP-Werte mit der Gewichtsabnahme gesenkt. Die durch das Übergewicht bedingten Veränderungen sind also mindestens teilweise reversibel.

Von 6 Patienten, die durch die Hungerdiät die Gruppe ihrer Gewichtszugehörigkeit wechseln konnten, haben 4 auch die Normwerte der neuen Gruppe erreicht, alles Patienten mit sehr hohem Übergewicht! Laut Literatur (30, 36, 46, 52, 66) soll sich durch Gewichtsabnahme der Hyperinsulinismus, vor allem die Glukoseutilisation bessern. Somit manifestiert sich folgende Tatsache:

Jede auch relativ geringe Gewichtsabnahme bessert den Zustand und die Prognose eines Übergewichtigen in Bezug auf die Gefahr des Diabetes. Daher sollte auch ein Diabetiker trotz aller Medikamente und Insulinsubstitution danach trachten, sein Körpergewicht zu verringern, da nur so eine verbesserte Nutzung des noch vorhandenen oder zugeführten Insulins zu erzielen ist.

Der Grund, warum einige Probanden trotz beträchtlicher Gewichtsabnahme ihren Gesamtinsulin- sowie den Proinsulinspiegel erhöhten, ist unklar, könnte aber in einer falsch zusammengestellten, zu kohlenhydratreichen Diät zu suchen sein. Als andere Möglichkeit führt BECK und Mitarb. (9) eine überschießende Reaktion des Organismus an, der, an die frühere Stresssituation angepaßt, bei geringer Belastung während der Diät weiterhin ein Zuviel an Hormonen produziert. Der Cholesterinspiegel sank während der Gewichtsreduktion im Durchschnitt um ca. 7 %. Ob diesem Befund eine Bedeutung zukommt, ist zweifelhaft, da die Cholesterinwerte nicht vom Körpergewicht abhängen. Ihre Senkung ist außerdem sehr gering und dürfte wohl im Bereich der physiologischen und alimentär bedingten Streuung liegen.

Der geringfügige Anstieg der Triglyceride läßt eben-

falls keinen Schluß zu.

Um die Auswirkungen der Gewichtsreduktion auf diese beiden Parameter zu erfahren, kann auf Literatur über Versuche mit kontrollierter Diät zurückgegriffen werden (z. B. 76).

5.

Ausblick

Abschließend stellt sich die Frage nach der physiologischen Aufgabe des Proinsulins. Es ist unwahrscheinlich, daß die hohen Proinsulinspiegel im Körper keine Funktion ausüben. Nach bisherigen Kenntnissen sind zelluläre Synthesewege sehr spezialisiert, wirkungslose Nebenprodukte fallen nur in geringsten Mengen an und werden auf schnellstem Wege abgebaut.

Dem stehen die sehr hohen Proinsulinspiegel im Nüchternzustand gegenüber. Bei Stimulation steigt der Insulinspiegel zwar stärker als der Proinsulinspiegel, nach kurzer Zeit stellt sich jedoch der Basalzustand mit seinem anteilmäßig hohen Proinsulinspiegel wieder ein.

Es ist nachgewiesen, daß Proinsulin nicht nennenswert zur Insulinwirkung auf die zelluläre Glukoseaufnahme beiträgt, da es in der Peripherie nicht in Insulin umgewandelt wird, also keine Depotfunktion hat (86), obwohl es wenn auch in geringerem Maße als das Insulin die Hemmung der Lipolyse und die Verstärkung der Kaliumaufnahme bewirkt. Eine indirekte Einflußnahme des Proinsulins auf den Glukosespiegel ist jedoch nicht auszuschließen. Es ist denkbar, daß sich

Proinsulin an dieselben Zellrezeptoren anlagern kann, an denen auch das Insulin seine Wirkung auf die Zelle ausübt. Damit wäre im Basalzustand mit seinem hohen Proinsulinwert ein Großteil der Rezeptoren von Proinsulin besetzt. Die Insulinwirkung würde dadurch eingeschränkt, der Regelkreis Glukosespiegel-Insulinausschüttung erführe somit durch das Proinsulin eine Bedämpfung, ohne daß Nebenfunktionen (Lipolyse und K-Austausch) behindert, bzw. verändert würden. Bei umgekehrten Verhältnissen, also einem hohen Insulin- und niedrigen Proinsulingehalt, d. h. bei Glukosebelastung, entfielen die Insulin-dämpfende Wirkung durch eine entsprechende Umbesetzung der Zellrezeptoren mit Insulin.

Versuche am menschlichen Unterarm konnten für diese Hypothese noch keine Bestätigung finden (39). Allerdings müßten bei weiteren Untersuchungen dazu die Proinsulin- und Insulinspiegel auf die im Basalzustand vorkommenden Werte gesenkt werden, da u. U. nur in diesem Konzentrationsbereich die vermuteten Effekte beobachtet werden können.

Eine zweite Möglichkeit für eine spezielle Proinsulinwirkung ergibt sich aus Beobachtungen, daß im portalen Blut wesentlich höhere Insulin- und Proinsulinspiegel vorliegen als in der Peripherie und daß

unter Stimulation das portale Insulin nicht mit dem peripheren korreliert (59). Hier könnte eine Steuerungsfunktion des Proinsulins auf die hepatische Insulinelimination vermutet werden:

Basal, bei hohen Proinsulinanteilen am Gesamtinsulin, wird die Leber zu hoher Insulinelimination herangezogen. Dadurch wird die Stabilität des basalen Blutzuckers gewährleistet. Bei hohen Insulin/Proinsulin-Verhältnissen, primär durch eine erhöhte Insulinausschüttung bedingt, würde eine Verminderung des Insulinabbaus die Reaktionsfähigkeit des Insulinspiegels im Belastungsfall unterstützen. Diese Theorie wird durch die Befunde der vorliegenden Arbeit unterbaut.

Aus den Meßergebnissen wird ersichtlich, daß bei allen Gewichtsgruppen das basale Verhältnis IRP/TIR sich mit ca. 60 % IRP ähnlich bleibt (stabiler Zustand), während insbesondere bei den Übergewichtigen der Anstieg der TIR hauptsächlich auf das Insulin (IRI) zurückzuführen ist. Hieraus folgte eine sich progressiv steigende Wirksamkeit des Regelsystems Insulin- Glukose mit ansteigendem Blutzuckerspiegel.

So gut wie gar nicht erforscht ist bisher die Wirkung des Proinsulins auf die Blutzucker-steigernden Hormone wie Glukocorticoide, Glucagon und andere.

Nach einem historischen Überblick über die Insulin- und Proinsulinforschung folgt eine genaue Beschreibung der Versuchsanordnung und Meßprinzipien.

Es wurden bei 55 normal- und übergewichtigen Probanden im Verlauf eines oralen Glukosetoleranztestes mit 100,0 g resorbierbarer Glukose die Serumspiegel von Glukose, Insulin und Proinsulin und Triglyceriden ausgewertet.

Zur radioimmunologischen Proinsulinbestimmung bedurfte es einer Insulin-spezifischen Protease (ISP), deren Präparation im einzelnen angegeben wird.

Die anhand von Tabellen und Abbildungen übersichtlich dargestellten Ergebnisse werden anschließend mit den Angaben der Literatur verglichen. Aus der vorliegenden Untersuchung folgt:

- 1a) Im Nüchternzustand lassen weder die basalen Insulin- noch Proinsulinwerte einen proportionalen Zusammenhang zwischen steigendem Körpergewicht und den Serumspiegeln erkennen, obwohl letztere bei Übergewichtigen signifikant erhöht sind.

- b) Schon geringes Übergewicht bis zu 20 % schlägt sich im Belastungstest deutlich in erhöhten Insulin- und Proinsulinspiegeln nieder, die bei stark Fettsüchtigen extreme Werte annehmen.
- 2) Bis zu einem Übergewicht von ca. 60 % steigert sich die Insulin- und Proinsulinausschüttung proportional zum steigenden Körpergewicht. Bei hochgradiger Fettsucht (über 160 % BROCA) fallen die sezernierten Insulin- sowie Proinsulinmengen durch Erschöpfung der pankreatischen β -Zellen wieder ab.
- 3) Der prozentuale Anteil des Proinsulins am Gesamtinsulin ist im Basalzustand am größten. Er beträgt mindestens 60 %.
- Nahezu unabhängig vom Übergewicht geht der Anteil des Proinsulins an TIR im Toleranztest auf ca. 20 % zurück.
- 4) Mit ansteigendem Übergewicht verschieben sich die Glukosemaxima geringfügig zu späteren Zeitpunkten des Tests hin. Die starke Verschiebung der Insulin-, besonders aber der Proinsulinmaxima bei Adipösen deutet auf einen überhöhten Insulinbedarf hin.

- 5) Die basalen Cholesterinwerte sind nur mit der Gesamtausschüttung des Proinsulins korrelierbar. Eine Erklärung muß entfallen, insbesondere da die Cholesterinspiegel nicht mit dem Körpergewicht zusammenhängen.
- 6) Die basalen Triglyceridspiegel verlaufen proportional erhöht zum Hyperinsulinismus.
- 7) Eine ambulant durchgeführte Reduktionsdiät war mangels Patientendisziplin nur zum Teil erfolgreich. Es zeigte sich jedoch, daß die hier beschriebenen, durch Übergewicht bedingten Stoffwechseleränderungen nach Gewichtsabnahme größtenteils reversibel sind. Für übergewichtige Patienten ist somit die Reduktion des Körpergewichts eine der wichtigsten präventiven Maßnahmen.

5. BAGDADE, J. D., Basal Insulin and Obesity
M. D. CORNELL Lancet II (1968) p. 630 - 631

6. BAJAJ, J. S. Insulin and Proinsulin
Lancet II (1973) p. 208

7. BANSAL, D. D., Precipitin Reactions between
J. H. CONNOLLY, Insulin, Proinsulin, Insulin
J. VALLANCE-OWEN Chains and Insulin Antibody
Diabetologia 9 (1973) p. 384 - 386

8. BASTENIC, P. A. Endocrine Disorders and
Diabetes in: E. F. Pfeiffer,
Handbuch des Diabetes Mellitus II,
München (1971) p. 871 - 912

9. BECK, P., Studies of Insulin and Growth
J. H. T. KOUMANS, Hormon Secretion in Human
C. A. WINTERLING, Obesity
M. F. STEIN, J. Lab. Clin. Med. 64
W. H. DAUGHADAY, (1964) p. 654 - 667
D. M. KIPNIS

10. BJÖRNTORP, P., Insulin Secretion in Relation
P. BERCHTOLD, to Adipose Tissue in Man
G. TIBBLIN Diabetes 20 (1971) p. 65 - 70

11. BJÖRNTORP, P., Number and Size of Adipose
 SJÖSTRÖM, L. Tissue Fat Cells in Relation
 to Metabolism in Human Obesity
 Metabolism 20 (1971) p. 703-713
12. BRODAL, B. P. The Influence of Haemolysis on
 the Radioimmunoassay of Insulin
 Scand. J. clin. Lab. Invest.
 28 (1971) p. 287 - 290
13. BRUSH, J. S. Purification and Characterization
 of a Protease with Specificity for
 Insulin from Rat Muscle
 Diabetes 20 (1971) p. 151 - 155
14. BURGHEM, G. A., Inhibition of Liver Insulin
 J. S. BRUSH, Specific Protease by Plasma
 S. S. SOLOMON, Inhibitors Clin. Res. 19
 A. E. KITABCHI (1971) p. 81
15. BURNS, T. W., Evaluation of the Oral Glucose
 R. BREGANT, Tolerance Test by a Continuous
 H. J. van PEENAN, Sampling Technique
 T. E. HOOD J. Lab. Clin. Med. 65 (1965)
 p. 927 - 943

16. CAHILL, G. F. Physiology of Insulin in Man
Diabetes 20 (1971) p. 785 - 799
17. CAROLL, K. F., Diurnal Variation in Glucose
P. J. NESTEL Tolerance and in Insulin
Secretion in Man
Diabetes 22 (1973) p. 333 - 348
18. CASTRO, A., Plasma Insulin and Glucose
J. P. SCOTT, Responses of Healthy Subjects
D. P. GRETTIE, to Varying Glucose Loads
D. MACFARLANE, During Three-hour Oral Glucose
R. E. BAILEY Tolerance Tests
Diabetes 19 (1970) p. 842 - 851
19. CERASI, E., Decreased Sensitivity of the
R. LUFT, Pancreatic Beta Cells to Glucose
S. EFENDIC in Prediabetic and Diabetic
Subjects
Diabetes 21 (1972) p. 224 - 234
20. CHANCE, R. E., Porcine Proinsulin: Characterization
R. M. ELLIS, and Amino Acid Sequence
W. W. BROMER Science 161 (1968) p. 165 - 167

26. CONARD, V., Physiological Interpretation of
E. Rasio, Glucose Tolerance Tests
J. R. M. FRANCKSON in: E. F. Pfeiffer, Handbuch des
Diabetes Mellitus II, München
(1971) p. 947 - 976
27. CRESTO, J. C., Insulin Radioimmunoassay by
I. L. DUJOVNE, the Charcoal-Dextran Technique
P. I. CASTELLANI Diabetologia 8 (1972) p. 292 - 295
et. al.
28. CRESTO, J. C., Plasma Proinsulin. Comparison
R. L. LAVINE, of Insulin Specific Protease and
G. FINK, Gel Filtration Assays
L. RECANT Diabetes 23 (1974) p. 505 - 511
29. DAWEKE, H., Bestimmung der insulinähnlichen
H. v. LANDEGHEM, Aktivität und der physiologischen
I. BACH, Insulinreserve bei schwerer
H. ZIMMERMANN, Adipositas
A. BREITBACH Klin. Wschr. 43 (1965) p. 185 - 190
30. DRASH. A. Relationship Between Diabetes
Mellitus and Obesity in the
Child
Metabolism 22 (1973) p. 337 - 344

31. DUCKWORTH, W. C., Effect of Glucose and Tolbutamide
M. HEINEMANN, on Plasma Proinsulin and Insulin
A. E. KITABCHI of Dogs
Clin. Res. 18 (1970) p. 601
32. DUCKWORTH, W. C., Direct Measurement of Plasma
A. E. KITABCHI, Proinsulin in Normal and Diabetic
Subjects
Amer. J. Med. 53 (1972) p. 418 - 427
33. EGGSTEIN, M., Eine neue Bestimmung der Neutral-
F. H. KREUTZ fette im Blutserum und Gewebe
Klin. Wschr. 44 (1966) p. 262 - 267
34. EL-KHODARY, A. Z., Insulin Secretion and Body
M. F. BALL, Composition in Obesity
I. M. OWEISS, Metabolism 21 (1972) p. 641 - 655
J. J. CANARY
35. ENGELHARDT, A. Metabolische Aspekte der Fettsucht
Dtsch.med.Wschr. 97 (1972) Nr. 5,
p. 161 - 166
36. FARRANT, P. C., Insulin Release in Response to
R. W. J. NEVILLE, Oral Glucose in Obesity: the
G. A. STEWART Effect of Reduciton of Body
Weight
Diabetologia 5 (1969) p. 198-200

37. FELIG, P. Pathophysiology of Diabetes Mellitus
Med. Clin. N. Amer. 55 (1971)
No. 4 p. 821 - 834
38. FELBER, J. P. Clinical Use of Radioimmunological Plasma Insulin Assessment
Klin. Wschr. 51 (1973) p. 63 - 67
39. Fineberg, S. E. Effects of Comparative Perfusion
T. J. MERIMEE of Equimolar, Single Component Insulin and Proinsulin in the Human Forearm Diabetes 22 (1973)
p. 676 - 686
40. FÖRSTER, H., Blutglucose und Seruminsulin nach
M. HASLBECK, oraler Applikation von Glucose
E. A. GESER, und Stärkesirup in unterschiedlicher
H. MEHNERT Dosierung
Diabetologia 6 (1970) p. 482 - 487
41. FREYCHET, P., First Step in Insulin Action: Direct
J. ROTH, Study of Binding to Liver Receptors
D. M. NEVILLE jr. J. Clin. Invest. 50 (1971)
p. 34a Abstr.

42. FREYCHET, P., Insulin Interactions with
R. KAHN, Liver Plasma Membranes:
J. ROTH, Independance of Binding of
et. al. the Hormone and its Degradation
J. Biol. Chem. 247 (1972)
p. 3953 - 3961
43. FROHMAN, L. A., Studies of Insulin Sensitivity
I. K. GOLDMAN, in vivo in Weanling Rats with
L. L. BERNARDIS Hypothalamic Obesity
Metabolism 21 (1972)
p. 1133 - 1142
44. GENUTH, S. M. Daily Insulin Secretion in
Normal, Obese and Diabetic
Subjects
Diabetes 22 (1973) S. I,
p. 305, Ref. 66
45. GLIEMANN, J., Assay of Insulin - Like
H. H. SØRENSEN Activity by the Isolated
Fat Cell Method, IV The
Biological Activity of
Proinsulin
Diabetologia 6 (1970)
p. 499 - 504

46. GOLDSMITH, S. J., Significance of Human Plasma
R. S. YALOW, Insulin Sephadex Fractions
S. A. BERSON Diabetes 18 (1969) p. 834 - 839
47. GOMEZ, F., Carbohydrate and Lipid Oxidation
E. JEQUIER, in Normal Human Subjects: Its
V. CHABOT, Influence on Glucose Tolerance
V. BUBER, and Insulin Response to Glucose
J.-P. FELBER Metabolism. 21 (1972)
p. 381 - 391
48. GORDEN, P., "Big Insulin": A High Proportion
B. SHERMAN, of Basal Insulin
J. ROTH Diabetes 19 (1969) Abstr. p. 360
49. GORDEN, P., Plasma Insulin Fluctuations in
J. ROTH the "Big" Insulin Component in
Man after Glucose and other
Stimuli
J. Clin. Invest. 48 (1969)
p. 2225 - 2233
50. GORDEN, P., The Circulating Proinsulin-Like
J. ROTH, Components
P. FREYCHET, Diabetes 21 (1972) S. II,
R. KAHN p. 673 - 677

51. GRABNER, W.,
D. BERGNER,
B. SOMMER
Über die Zuverlässigkeit
radioimmunologischer Insulin-
bestimmungen
Schweiz.med.Wschr. 104 (1974)
p. 234 - 239
52. GREY, N.,
D. M. KIPNIS
Effect of Diet Composition on
the Hyperinsulinemia of Obesity
New Eng.J.Med. 284 (1971)
p. 827 - 831
53. GUTMAN, R. A.,
N. R. LAZARUS,
J. C. PENHOS,
S. FAJANS,
L. RECENT
Circulating Proinsulin-like
Material in Patients with
Functioning Insulinomas
New Eng.J.Med. 284 (1971)
p. 1003 - 1008
54. GUTMAN, R. A.,
N. R. LAZARUS,
L. RECENT
Electrophoretic Characterization
of Circulating Human Proinsulin
and Insulin
Diabetologia 8 (1972)
p. 136 - 140
55. HALES, C. N.,
P. J. RANDLE
Innumoassay of Insulin with
Insulin-Antibody Precipitates
Biochem.J. 88 (1963)
p. 137 - 146

56. HAUSMANN, L., Kohlenhydrattoleranz und
R. SCHUBOTZ, Insulinsekretion bei Patienten
H. BORN, mit Leberzellverfettung
H. KAFFARNIK Schweiz.med.Wschr. 103 (1973)
p. 1002 - 1007
57. HAUSMANN, L. Radioimmunologische Insulin-
bestimmung für die Klinik
Diagnostik 7 (1974) p. 21 - 23
58. HAUSMANN, L., Persönliche Mitteilungen
J. KLIMEK
59. HORWITZ, D. L., Proinsulin, Insulin, and C-
J. I. STARR, Peptide Concentrations in
M. MAKO, Human Portal and Peripheral
W. G. BLACKARD, Blood
A. H. RUBENSTEIN J. Clin. Invest 55 (1975)
p. 1278 - 1283
60. GUSEMANN, B. Dünndarmausschaltung zur
Therapie extremer Adipositas
Dtsch.med.Wschr. 98 (1973)
p. 2343 - 2347

61. ISSEKUTZ sen., B. Die Geschichte der Arznei-
mittelforschung
Akadémia Kiado, Budapest, 1971
62. JACKSON, J. M. D., Effect of Fasting on Glucose
M. T. Mc KIDDIE, and Insulin Metabolism of Obese
K. D. BUCHANAN Patients Lancet I (1969)
p. 285 - 287
63. JACOT, J. P., Evidence for Two Types of
K. A. ZUPPINGER, Juvenile Obesity on the Basis
E. E. JOSS, of Body Composition and Insulin
A. DONATH Release Following Small Doses
of Glucose
Klin. Wschr. 51 (1973) p. 1109-1114
64. JARRET, R. J., Diurnal Variation in Oral Glucose
I. A. BAKER, Tolerance: Blood Sugar and
H. KEEN, Plasma Insulin Levels Morning,
N. W. OAKLEY Afternoon and Evening
Brit.Med.J. 1 (1972)
p. 199 - 201
65. JØRGENSEN, K. R. Radioimmunoassay of Insulin in
Plasma and Urine in Obese Subjects
and in Dabetic Patients
Acta endocr. 60 (1969) p. 719-736

66. KALKHOFF, R. K., Metabolic Effects of Weight Loss
H. J. KIM, in Obese Subjects. Changes in
J. CERLETTY, Plasma Substrate Levels, Insulin
C. A. FERROU and Growth Hormone Responses
Diabetes 20 (1971) p. 83 - 91
67. KARAM, J. H., Excessive Insulin Response to
G. M. GRODSKY, Glucose in Obese Subjects as
P. H. FORSHAM Measured by Immunochemical Assay
Diabetes 12 (1963) p. 197 - 204
68. KARAM, J. H., Critical Factors in Excessive
G. M. GRODSKY, Serum Insulin Response to Glucose
F. C. PAVLATOS, Lancet I (1965) p. 286 - 289
P. H. FORSHAM
69. KEMMLER, W., On the Biosynthesis, Intracellular
I. D. PETERSON, Transport and Mechanism of Conversion
A. H. RUBENSTEIN, of Proinsulin to Insulin and
D. F. STEINER C-Peptide
Diabetes 21 (1972) S. 2,
p. 572 - 581

74. KITABCHI, A. E., Direct Measurement of Proinsulin
W. C. DUCKWORTH, in Human Plasma by the Use of
J. S. BRUSH an Insulin-Degrading Enzyme
M. HEINEMANN J.Clin.Invest 50 (1971) p. 1792-1799
75. KLIMEK, J. Dissertation, Marburg (1976)
76. LAUBE, H., Der Einfluß von Ernährungsfaktoren
S. RAPTIS, auf die Entstehung von Fettsucht
E. F. PFEIFER und Hyperinsulinismus
Dtsch.med.Wschr. 98 (1973)
p. 1256 - 1259
77. LIEBERMEISTER, H., Einfluß der Gewichtsreduktion auf
H. DAWEKE, Metabolite des Kohlenhydrat- und
F. A. GRIES, Fettstoffwechsels und auf das
W. H. SCHILLING, Verhalten des Seruminsulins bei
D. GRÜNKLEE, Adipositas
G. PROBST, Diabetologia 4 (1968)
K. JAHNKE p. 123 - 132
78. LIEBERMEISTER, H. Gewichtsreduktion bei Adipositas
durch Diät, Medikamente und
operative Verfahren
Klin.Wschr. 49 (1971) p. 125 - 134

79. LOGOTHETOPOULOS, J., Proinsulin in β -Cells of Bovine
C. C. YIP Islets Demonstrated by Fluorescein
M. F. COBURN or Peroxidase-Labeled Specific
Antibody
Diabetes 19 (1970) p. 539 - 545
80. LOTEN, E. G., In Vivo Studies on Lipogenesis
A. RABINOVITCH, in Obese Hypoglycaemic Mice:
B. JEANRENAUD Possible Role of Hyperinsulinemia
Diabetologia 10 (1974) p. 45 - 52
81. LUYCKX, A. S., Plasma Insulin in Reactive
P. J. LEFEBVRE Hypoglycemia
Diabetes 20 (1971) p. 435 - 442
82. MEHNERT, H., Zur Prüfung der oralen Glukose-
M. HASLBECK, toleranz
H. FÖRSTER Dtsch.med.Wschr. 97 (1972)
p. 1763 - 1766
83. MELANI, F., Über die radioimmunologische Be-
H. DITSCHUNEIT, stimmung von Insulin im Blut
K. M. BARTELT, Klin. Wschr. 43 (1965)
H. FRIEDRICH, p. 1000 - 1007
E. F. PFEIFFER

84. MELANI, F., Immunologisch meßbares Insulin
J. LAWECKI, (IMI) bei Stoffwechselgesunden,
K. M. BARTELT, Fettsüchtigen und adipösen
E. F. PFEIFFER Diabetikern nach intravenöser
Gabe von Glucose, Tolbutamid
und Glucagon
Diabetologia 3 (1967) p. 422 - 426
85. MELANI, F. Das immunologisch meßbare Insulin
im Blut
Habilitationsschrift Ulm 1968
86. MELANI, F., Über Serum Proinsulin
A. H. RUBENSTEIN, J. Clin. Invest. 49 (1970)
D. F. STEINER p. 497 - 507
87. MELANI, F., Identification of Proinsulin and
A. H. RUBENSTEIN, C-Peptide in Human Serum by a
P. E. OYER, Specific Immunoassay
D. F. STEINER Proc. Nat. Acad. Sci. (US) 67
(1970) p. 148 - 155
88. MELANI, F., Proinsulin and C-Peptide in
A. H. RUBENSTEIN, Human Serum in: E. F. Pfeiffer,
D. F. STEINER Handbuch des Diabetes mellitus Bd. II,
München 1971 p. 159 - 172

89. MELANI, F. Die radioimmunologische Bestimmung
des Insulins
in: E. F. PFEIFFER, Handbuch
des Diabetes mellitus Bd. II,
München 1971 p. 69 - 103
90. MIRSKY, A., The Inactivation of Insulin by
R. H. BROH-KAHN Tissue Extracts. I. The
Distribution and Properties
of Insulin Inactivating Extracts
(Insulinase)
Arch. Biochem. 20 (1949) p. 1 - 9
91. MORGAN, C. R., Immunoassay of Insulin: Two
H. LAZAROW Antibody System. Plasma Insulin
Levels of Normal, Subdiabetic
and Diabetic Rats
Diabetes 12 (1963) p. 115 - 126
92. NOLAN, C., The Structure of Bovine Proinsulin
E. MORGIOLIASH, J. Biol. Che. 246 (1971)
J. D. PETERSON, p. 2780 - 2795
D. STEINER

93. OGAWA, Y. Some Aspects of "Immunoreactive Insulin" Hyperresponse in Obese Non Diabetic, in Early Diabetic and in Liver Cirrhotic Patients after Oral Glucose Administration J. Wakayama Med. Soc. 23/2 (1972) p. 135 - 143
94. OYER, P. E., Isolation and Structure of Human Proinsulin C-Peptide
S. CHO, Fed. Proc. 29 (1970) p. 533,
D. F. STEINER Abstr. 1602
95. OYER, P. E., Studies on Human Proinsulin. Iso-
S. CHO, lation and Amino Acid Sequence of
J. D. PETERSON, the Human Pancreatic C-Peptide
D. F. STEINER J. Biol. Chem. 246 (1971)
p. 1375 - 1386
96. PAULLIN, J. E., A Studie of the Glucose Tolerance
H. C. SAULS in the Obese
Sth. Med.J. 15 (1922) p. 249
97. PAULSEN, E. P., Plasma Glucose, Free Fatty Acids
L. RICHENDERFER, and IRI in Sixty-six Obese
F. GINSBERG-FELLNER Children
Diabetes 17 (1968) p. 261-269

98. PERLEY, M.,
D. M. KIPNIS
Plasma Insulin Response to
Glucose and Tolbutamide of
Normal Weight and Obese Diabetic
Subjects
Diabetes 15 (1966) p. 867 - 874
99. PFEIFFER, E. F.
Statistik und Dynamik der
Insulinsekretion bei Diabetes,
Proto-Diabetes und Adipositas
in: E. F. PFEIFFER, Handbuch des
Diabetes Mellitus II, München
(1971) p. 123 - 158
100. QUABBE, H. J.
Modifikation der radioimmunologischen
Insulinbestimmung nach Hales und
Randle
Diabetologia 5 (1969) p. 101 - 107
101. RABINOWITZ, D.,
K. L. ZIERLER
Forearm Metabolism in Obesity and
its Response to Intraarterial
Insulin. Charakterization of Insu-
lin Resistance and Evidence for
Adaptive Hyperinsulinism
Lancet II (1961) p. 690 - 692
J. Clin. Invest 41 (1962) p. 2173 -
2175

107. RUBENSTEIN, A. H., Evidence of Proinsulin in Human
S. CHO, Urine and Serum
D. F. STEINER Lancet I p. 1353 - 1355
108. RUBENSTEIN, A. H., Proinsulin Secretion, Metabolism,
F. MELANI, Immunological and Biological
S. PICKIS, Properties
D. F. STEINER Postgrad. Med. J. 45 (1969)
p. 476 - 481
109. RUBENSTEIN, A. H., Human Proinsulin: Some Considerations
D. F. STEINER in the Development of a Specific
Immunoassay
Proc. Int. Symp. Early Diab. Marbella,
Spain Acad. Press Inc. NY 1970
110. RUBENSTEIN, A. H., Proinsulin
D. F. STEINER Ann. Rev. Med. 22 (1971)
111. RUBENSTEIN, A. H., Proinsulin and C-Peptide in Blood
M. B. BLOCK, Diabetes 21 (1972) S. 2,
J. STARR, p. 661 - 672
F. MELANI,
D. F. STEINER

112. RUBENSTEIN, A. H., The Metabolism of Proinsulin
L. A. POTTENGER, and Insulin by the Liver
M. MAKO J. Clin. Invest. 51 (1972)
et. al. p. 912 - 921
113. RUBENSTEIN, A. H., Clinical Significance of
J. I. STARR, Circulating Proinsulin and C-Peptide
M. B. BLOCK, Diabetes 22 (1973) S. I,
et. al. p. 304 (Abstr.)
114. SACHS, L. Statistische Auswertungsmethoden
Berlin, Heidelberg 1968
115. SALANS, L. B., The Role of Adipose Cell Size and
J. L. KNITTLE, Adipose Tissue Sensitivity in the
J. HIRSCH Carbohydrate Intolerance of Human
Obesity
J. Clin. Invest. 47 (1968)
p. 153 - 165
116. SANDO, H., Dynamic Synthesis and Release of
G. M. GRODSKY Insulin and Proinsulin from
Perfused Islets
Diabetes 22 (1973) p. 354 - 360

117. SCHLICHTKRUIL, J., Proinsulin and Related Proteins
J. BRANGE, Lect. of 5th ann. meeting of
H. EGE, Europ. Ass. Stdy. Diab. 1969
et. al.
118. SCHMIDT, F. H., Zur Methode der enzymatischen
K. v. DAHL Neutralfettbestimmung in bio-
logischem Material
Z. klin. Chem. 6 (1968)
p. 156 - 159
119. SCHÜTZ, W. Die Bestimmung des Blutzuckers mit
o-Toluidin im Auto-Analyzer
Ärztl. Lab. 14 (1968) p. 500-507
120. SCHULTZ, R. B. Metabolic Aspects of Obesity
Metabolism, 22 (1973)
p. 359 - 362
121. SHERMAN, B., Circulating Insulin: The
P. GORDEN, Proinsulin-Like Properties
J. ROTH of "Big" Insulin in Patients
P. FREYCHET Without Islet Cell Tumors
J. Clin. Invest. 50 (1971)
p. 849 - 858

127. STEINER, D. F. The Biosynthesis of Insulin
E. OYER and a Probable Precursor of
 Insulin by a Human Islet
 Cell Adenoma
 Proc. Nat. Acad. Sci (USA)
 57 (1967) p. 473 - 480
128. STEINER, D. F., Insulin Biosynthesis:
D. CUNNINGHAM Evidence for a Precursor
 Science 157 (1967) p. 697 - 700
129. STEINER, D. F., Isolation and Characterization of
S. CHO, Proinsulin C-Peptide from Bovine
E. OYER, Pancreas
S. FERRIS, J. Biol. Chem. 246 (1972)
J. D. PETERSON, p. 1365 - 1374
A. H. RUBENSTEIN
130. STOLL, R. W., Hypoglycaemic Activity and
J. L. TOUBER, Immunological Half-Life of
L. C. WINTERSCHEID Porcine Insulin and Proinsulin
 in Baboons on Swine
 Endocrinology 88 (1971) p. 714-717
131. TRAUTWEIN, H. Risikofaktor Fettsucht
 Münch. med. Wschr. 115 (1973)
 p. 2151 - 2155

132. TROWELL, H. Fibre and Obesity
Lancet I (1974) p. 95
133. VALANCE-OWEN, J. Insulin in Blood - The Antagonists
in: E. F. PFEIFFER, Handbuch des
Diabetes Mellitus II, München
(1971) p. 105 - 122
134. WARBURG, O. H., Protein Estimation by extinction
H. CHRISTIAN at 260 nm and 280 nm
in: Data for Biochemical Research
Oxford University Press,
Glasgow 1969, p. 625
135. WEINGES, K. F., Diabetes: Glukosetoleranz und
G. BIRO, Plasmainsulin bei fettsüchtigen
U. PLISCHKE Personen
Therapiewoche 20, 35 (1970)
p. 1501 - 1511
136. YALOW, R. S., Assay of Plasma Insulin in Human
S. A. BERSON Subjects by Immunological
Methods
Nature 21 (1959) p. 1648

137. YALOW, R. S., Immunoassay of Endogenous
S. A. BERSON Plasma Insulin in Man
J. Clin. Invest. 39 (1960)
p. 1157 - 1175
138. YALOW, R. S., Big, Big Insulin
S. A. BERSON Metabolism 22 (1973) p. 703 - 713
139. ZÖLLNER, N., Die säulenchromatographische
K. KIRSCH Trennung der Plasmalipoproteide
I. Mitteilung:
Methodik und Identifizierung der
Fraktionen
Z. ges. exp. Med. 134 (1960) 1,
p. 10 - 28

Lebenslauf

25. 6. 1950	Detlef Klähn, geb. in Ebsdorf bei Marburg/Lahn
1955 - 1959	Besuch der Volksschule in Mettmann
1959 - 1968	Besuch des Konrad Heresbach Gymnasiums in Mettmann
28.5.1968	Reifeprüfung
1968 - 1973	Studium der Zahnheilkunde an der Philipps-Universität in Marburg
4.12.1973	Zahnärztliche Prüfung
Feb.-Juni 1974	Durchführung der Versuche und Messungen zur vorliegenden Arbeit

Herrn Priv.-Doz. Dr. Hausmann danke ich für die Themenstellung und die planvolle Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Ferner danke ich Herrn Dipl.-Math. P. Zöfel vom Rechenzentrum der Philipps-Universität für die Erstellung der Computerberechnungen sowie meinem Kollegen J. Klimek für die kameradschaftliche Zusammenarbeit.

Meine akademischen Lehrer waren die Professoren
und Dozenten:

Amon, Aurich, Bernhardt, Castenholz, Dehnicke, Dimroth,
Goebell, Haan, Haenisch, Hahn, Hennis, Hensel,
Hering, Heuser, Hildebrandt, Hort, Janke, Karlson,
Keil, Koecke, Korb, Kühnel, Niemeyer, Petri, Pfütz,
Riecken, Rohen, Rosemann, Rupec, Schienbein,
Schiff, Schmidt, Schmitz-Moormann, Schneider, Schnell,
Seidel, Walcher, Wesemann, Weigandt, Zilliken

